

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ  
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ  
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

# **Біокомпоненти мікро- та наносистем. Лабораторний практикум**

*Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського  
як навчальний посібник для студентів,  
які навчаються за спеціальністю 153 «Мікро- та наносистемна техніка»,  
освітньою програмою « Електронні мікро- і наносистеми та технології»*

Київ  
КПІ ім. Ігоря Сікорського  
2020

Біокомпоненти мікро- та наносистем. Лабораторний практикум [Електронний ресурс]: навч. посіб. для студ. спеціальності 153 «Мікро- та наносистемна техніка», освітньої програми «Електронні мікро- і наносистеми та технології» / КПІ ім. Ігоря Сікорського; уклад.: Н.Г. Іванушкіна, К.О. Іванько. – Електронні текстові дані (1 файл: 2015 Кбайт). – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020. – 51 с.

Гриф надано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського (*протокол № від. 2020 р.*)  
за поданням Вченої ради факультету електроніки (*протокол № від .2020 р.*)

Електронне мережне навчальне видання

# Біокомпоненти мікро- та наносистем. Лабораторний практикум

Укладачі: *Іванушкіна Наталія Георгіївна, к.т.н., доц.*  
*Іванько Катерина Олегівна, к.т.н., доц.*

Відповідальний  
редактор *Тимофєєв Володимир Іванович, д-р техн. наук, проф.*

Рецензент: *Попович Павло Васильович, к.т.н., доц. каф. АМЕС*

Навчальний посібник присвячено допомозі студентам при вивченні навчальної дисципліни «Біокомпоненти мікро- та наносистем». Викладено теоретичні відомості та завдання до лабораторних робіт, присвячених біонанотехнологіям та принципам організації наносистем на основі компонентів живої природи. Лабораторний практикум складається з 4 робіт, на які виділено 18 годин навчального часу.

The manual is dedicated to helping students study the discipline "Biocomponents of micro- and nanosystems". Theoretical information and tasks for students devoted to bionanotechnologies and principles of organization of nanosystems based on components of living nature are provided. The laboratory workshop consists of 4 works, for which 18 hours of study time are assigned.

© КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2020

## ВСТУП

Курс «Біокомпоненти мікро- та наносистем» призначений для надання студентам теоретичних і практичних навичок дослідження та розробки мікро- та наносистемної техніки на базі компонентів живої природи. Вивчаються особливості біомедичних нанотехнологій, які використовуються при побудові біокомпонентів біомедичних мікро- та наносистем, а також методи моделювання та аналізу біокомпонентів.

Курс базується на знаннях, набутих під час вивчення спеціальних розділів прикладної біофізики, біохімії, основ нанотехнологій, фізіології людини, а також обчислювальної математики та теорії електронних кіл. В процесі вивчення даного курсу студенти ознайомляться з основними поняттями нанобіотехнологій та напрямками розвитку нанобіоструктур та нанобіотехнологій, з будовою та застосуванням нанобіосенсорів, біочіпів на основі ДНК. В курсі розглядаються нанобіотехнології на основі методів генної інженерії, нанобіотехнології надмолекулярного рівня організації живих систем, фібрилярні структури біологічних тканин, природні та штучні нановолокна, неклітинні та прокаріотичні форми життя в наноконструкціях, основи побудови біонанороботів. Також в даному курсі студенти знайомляться з основами технологій «Лабораторія–на-чіпі» та з особливостями побудови пристроїв «Серце-на-чіпі».

В процесі вивчення курсу студенти виконують лабораторний практикум, що розвиває навички наукового експериментування і дослідницький підхід до дисципліни. Студенти виконують розрахунки і моделювання процесів, пов'язаних з біоелектричними явищами. Програмна реалізація методів, що вивчаються, виконується на персональних комп'ютерах.

## **Лабораторна робота №1.**

### **Моделювання біонаносенсорів.**

**Мета роботи:** Ознайомлення з основами побудови біонаносенсорів та методами їх моделювання на субклітинному рівні при використанні опису процесів біологічної мембрани.

#### **Теоретичні відомості**

**Біомедичний сенсор** – чутливий елемент, який перетворює біомедичний сигнал в електричний сигнал, тобто він являє собою інтерфейс між біологічною та електронною системами.

Якщо рецептором є **біологічна структура**, тоді біомедичний сенсор називається **біосенсором**. В разі виготовлення біосенсорів за допомогою технологій нанoeлектроніки їх називають **біонаносенсорами**.

#### **Склад біосенсора:**

- рецепторний шар, який селективно взаємодіє з аналітом;
- перетворювач біологічної взаємодії в електричний сигнал;
- система збору та обробки даних.

#### **Основні статичні характеристики.**

**Чутливість** біосенсора - відношення значення аналітичного сигналу до концентрації аналіта, який викликав цей сигнал.

**Селективність** біосенсора - здатність детектувати даний аналіт у присутності сторонніх речовин. Визначається як відношення значення сигналу, яке викликає аналіт, до значення сигналу, яке викликається домішкою тієї ж концентрації.

#### **Основні динамічні характеристики.**

**Час відгуку** - інтервал між моментом подачі аналіта та моментом появи аналітичного сигналу.

**Час життя** – тривалість роботи сенсора, яка обмежена деградацією рецепторного шару.

**Час регенерації** – час, який потрібен для відновлення працездатності рецепторного шару.

Важливими характеристиками є **точність, робочий діапазон вимірювань.**

Живі клітини вміють точно розпізнавати зовнішні **сигнали** і адекватно реагувати на них. Клітина розпізнає даже малу їх кількість за допомогою спеціальних **білків-рецепторів**, які розташовані у плазматичній мембрані. **Розпізнавши сигнал, рецептори передають інформацію всередину клітини,** де вона багато разів підсилюється та призводить до тієї чи іншої **клітинної відповіді.**

Клітини живих організмів оточені плазматичною мембраною завтовшки близько 6-10 нм (рис. 1.1), головна функція якої полягає в управлінні переходом речовин (іонів і молекул) в клітину і з неї. До складу мембрани входять ліпіди і білкові компоненти. Молекули ліпідів розташовані упорядковано — перпендикулярно до поверхні, у два шари, так, що полярні голівки, які мають гідрофільні властивості, спрямовані назовні, а неполярні вуглеводневі хвости, які мають гідрофобні властивості, спрямовані всередину мембрани. Ліпідний шар мембрани ефективно перешкоджає процесу вільного проходження іонів крізь мембрану.

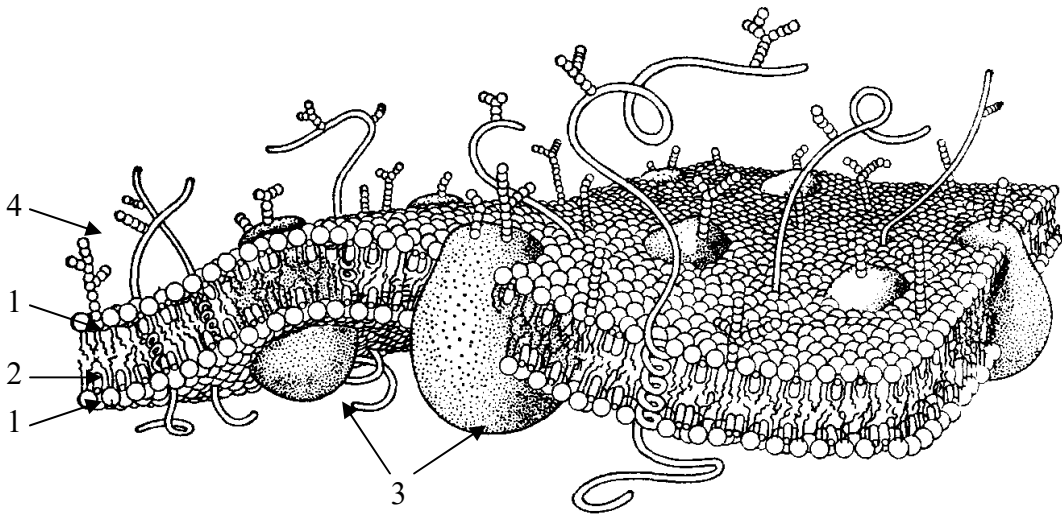


Рис. 1.1. Будова клітинної мембрани:  
1 — гідрофільні голівки ліпідів, 2 — гідрофобні частини молекул ліпідів,  
3 — молекули білків, 4 — молекули вуглеводів

Гідрофобні хвости утворюють внутрішню структуру мембрани, яка поводить себе, як діелектрик з відносною діелектричною проникністю  $\epsilon \approx 3$  завтовшки  $d$  близько  $30\text{\AA}$ . Оцінімо питому ємність такої структури:

$$C_m = \frac{\epsilon \epsilon_0}{d} = \frac{3 \cdot 8.85 \cdot 10^{-12}}{30 \cdot 10^{-10}} = 8.85 \cdot 10^{-3} \frac{\Phi}{\text{см}^2} = 0.885 \frac{\text{мкФ}}{\text{см}^2} \approx 1 \frac{\text{мкФ}}{\text{см}^2}$$

Отримане значення виявляється досить гарною оцінкою майже для всіх збудливих мембран.

До функцій мембранних білків входить формування каналів, завдяки яким може відбуватися обмін іонами між внутрішньо- і позаклітинним середовищем. Частина білків занурена у ліпідний шар, а деякі з них пронизують мембрану наскрізь, як, наприклад, транспортні білки, що беруть участь у перенесенні іонів натрію і калію. Вважається, що білки не закріплені в мембрані нерухомо, а мають деяку свободу переміщення.

У нерві і м'язі електрична активація пов'язана з рухом іонів натрію та калію, а також інших іонів крізь мембрану крізь іонні канали. Білки не лише полегшують проходження кожного з іонів, але й управляють його потоком, обумовлюючи вибірку проникність мембрани.

Наявність потенціалу спокою мембрани обумовлена двома факторами:

- різною концентрацією іонів у внутрішньо- і позаклітинному середовищі;
- вибірковою проникністю мембрани для різних іонів.

У всіх збудливих клітинах концентрація внутрішньоклітинного калію набагато перевищує концентрацію калію поза клітиною, а позаклітинні концентрації натрію і хлору набагато більше їх внутрішньоклітинних концентрацій. Нерівність концентрацій іонів у внутрішньо- і позаклітинному просторі викликає дифузію іонів з області високої концентрації в область низької концентрації. Швидкість дифузії залежить від різниці концентрацій і проникності мембрани. Оскільки іони несуть електричні заряди, а мембрана характеризується певною електричною ємністю, заряди накопичуються, що приводить до виникнення різниці потенціалів на мембрані.

Ця різниця потенціалів створює в товщі мембрани електричне поле, яке породжує сили, що діють на всі заряджені частинки всередині мембрани. Таким чином, повний струм іонів крізь мембрану має дифузну і дрейфову складові.

Для біологічних клітин потенціал мембрани  $U_m$  прийнято визначати як різницю внутрішнього та зовнішнього потенціалів. Отже, різниця потенціалів на мембрані  $U_m$  дорівнює:

$$U_m = \varphi_i - \varphi_e = \varphi_r \frac{q}{Z} \ln \frac{N_{ce}}{N_{ci}}.$$

де  $Z$  – заряд іона,  $q$  – заряд електрона,  $N_{ci}$  – внутрішньоклітинна концентрація іонів,  $N_{ce}$  – позаклітинна концентрація іонів.

Отримане значення потенціалу мембрани називають потенціалом Нернста. Його можна інтерпретувати як потенціал, при якому іон сорту  $C$  перебуває в рівновазі з діючою на нього дифузійною силою.

Для того, щоб підкреслити, що отриманий вираз для потенціалу Нернста відповідає катіонам, перепишемо останнє рівняння у вигляді

$$U_C = \varphi_r \frac{q}{|Z|} \ln \frac{N_{ce}}{N_{ci}}. \quad (1.1)$$

Аналогічно можна розв'язати рівняння Нернста-Планка, якщо припустити, що мембрана проникна для аніонів  $A^-$ , але непроникна для катіона  $C^+$ . При цьому, враховуючи, що для аніонів  $Z < 0$ , одержимо

$$U_A = \varphi_r \frac{q}{|Z|} \ln \frac{N_{Ai}}{N_{Ae}}, \quad (1.2)$$

де  $N_{Ai}$  – внутрішньоклітинна концентрація аніонів,  $N_{Ae}$  – позаклітинна концентрація аніонів.

Не слід ототожнювати потенціали Нернста з потенціалом на мембрані  $U_m$ . Вони збігаються лише в розглянутій модельній задачі. У реальних клітинах потенціал мембрани є зваженою сумою потенціалів Нернста для різних іонів.

Вагові коефіцієнти в цій сумі залежать від того, наскільки мембрана здатна пропускати через себе даний сорт іонів. Якщо потенціал на мембрані близький до потенціалу Нернста для якогось типу іонів, то це означає, що для даних іонів дрейфові сили врівноважують дифузійні. А якщо ні, то дифузійні й дрейфові сили не врівноважені й рівновага в системі досягається тільки за рахунок того, що мембрана виявляється непроникною (точніше слабо проникною) для даного сорту іонів.

У загальному випадку біологічна мембрана не може бути в рівновазі для всіх іонів. Якщо обчислити потенціали Нернста для іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  за умови їх звичайних концентрацій, то отримані величини виявляються різними. Таким чином, жоден мембранний потенціал Нернста не може одночасно врівноважити всі іони. Мембранний потенціал спокою може бути знайдений з умови рівноваги  $J = 0$ .

$$U_m = \Phi_T \ln \left[ \frac{p_K [K]_e + p_{Na} [Na]_e + p_{Cl} [Cl]_i}{p_K [K]_i + p_{Na} [Na]_i + p_{Cl} [Cl]_e} \right]. \quad (1.3)$$

де  $p_K$  - проникність мембрани для іонів калію;  $p_{Na}$  - проникність мембрани для іонів натрію;  $p_{Cl}$  - проникність мембрани для іонів хлору;  $[K]_i$ ,  $[K]_e$  - внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів калію;  $[Na]_i$ ,  $[Na]_e$  - внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів натрію, а  $[Cl]_i$ ,  $[Cl]_e$  - внутрішньо- та позаклітинна концентрації іонів хлору.

Це рівняння називається рівнянням Голдмана. З рівняння Голдмана випливає, що мембранний потенціал не залежить від абсолютних значень проникностей мембрани для різних іонів, а залежить тільки від їх співвідношення  $p_K : p_{Na} : p_{Cl}$ .

З рівняння Голдмана можна зробити висновок, що якщо мембрана проникна тільки для одного виду іонів (наприклад,  $p_K \gg p_{Na}$  і  $p_K \gg p_{Cl}$ ), тоді мембранний потенціал дорівнює потенціалу Нернста для того виду іонів, для якого проникна мембрана (наприклад, іонів  $K^+$ ).



У створенні потенціалу спокою вплив іона хлору в порівнянні з впливом іона калію є другорядним. Це пов'язане з тим, що внутрішньоклітинна концентрація хлору дуже мала та при малому притоку або відтоку іонів зазнає більших відносних змін. Отже, можна чекати, що рух іонів хлору буде приводити його концентрації по обидві сторони мембрани до практично фіксованих відношень концентрацій іона калію, тобто буде спрямований на вирівнювання потенціалів Нернста. Тому в багатьох практичних задачах можна припустити, що іони хлору перебувають у рівновазі або відсутні. У цьому випадку:

$$U_m \approx \phi_T \ln \frac{[K]_e + \alpha[Na]_e}{[K]_i + \alpha[Na]_i}, \quad \text{де } \alpha = \frac{p_{Na}}{p_K} \quad (1.4)$$

Припущення про наявність незалежних провідних іонних каналів дозволяє побудувати схемотехнічну модель мембрани, відому як модель паралельних провідностей (рис. 1.2). Кожна з ланок електричного ланцюга відображає внесок одного виду іонів у загальний мембранний струм.

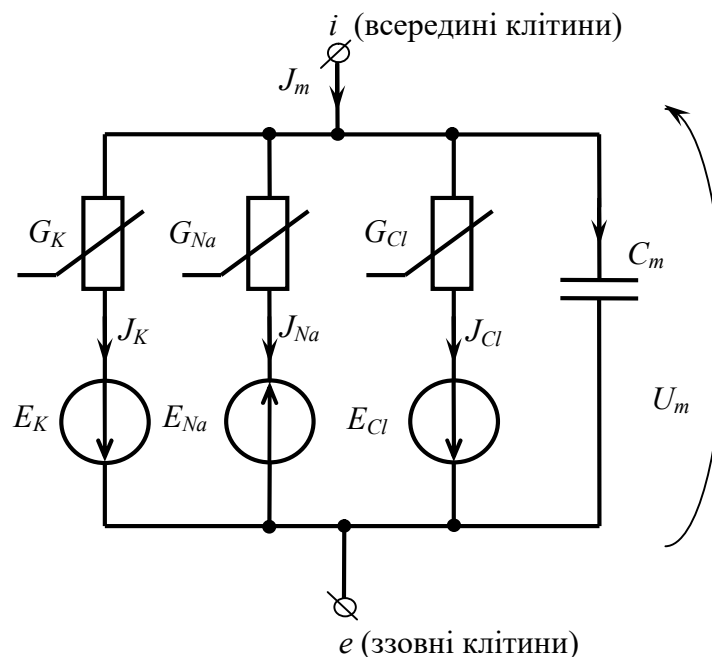


Рис. 1.2. Модель паралельних провідностей для мембрани клітини з незалежними провідними каналами для іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ .

Джерела напруги еквівалентної схеми мембрани моделюють потенціали Нернста для кожного типу іонів. Їх електрорушійна сила (ЕРС) визначається за формулою Нернста:

$$\begin{aligned} E_K &= -\varphi_r \ln \frac{[K]_e}{[K]_i} \\ E_{Na} &= \varphi_r \ln \frac{[Na]_e}{[Na]_i} \\ E_{Cl} &= -\varphi_r \ln \frac{[Cl]_i}{[Cl]_e} \end{aligned} \quad (1.5)$$

Різні полярності джерел напруги відображають той факт, що потенціали Нернста для калію та хлору є від'ємними, а потенціал Нернста для натрію – додатнім.

Якщо потенціал мембрани дорівнює  $U_m$ , то результуюча рушійна сила для калію буде дорівнювати  $U_m + E_K$ , що відповідає відхиленню від стану рівноваги. Тоді щільність калієвого струму  $J_K$  дорівнює  $J_K = G_K(U_m + E_K)$ , де  $G_K$  – калієва провідність. Якщо напруга на мембрані  $U_m$  від'ємна за величиною та  $|U_m| < E_K$ , то спрямовані назовні дифузійні сили не повністю врівноважуються електричним полем. У результаті виникає некомпенсований потік калію назовні.

Аналогічно для іона хлору одержимо:  $J_{Cl} = G_{Cl}(U_m + E_{Cl})$ . Якщо  $U_m < 0$  і  $|U_m| < E_{Cl}$ , то дифузія хлору не врівноважується повністю й виникає некомпенсований потік іонів, що спрямований всередину клітини. Оскільки цей потік складається з іонів з від'ємним зарядом, він створює електричний струм, спрямований назовні.

Для іона натрію маємо:  $J_{Na} = G_{Na}(U_m - E_{Na})$ .

Останньою складовою мембранного струму є ємнісний струм (струм зміщення):  $J_C = C_m(dU_m/dt)$ . Тоді повний мембранний струм дорівнює:

$$J = G_K(U_m + E_K) + G_{Na}(U_m - E_{Na}) + G_{Cl}(U_m + E_{Cl}) + C_m \frac{dU_m}{dt}.$$

При рівновазі  $J = 0$  та  $\frac{dU_m}{dt} = 0$ . Звідки:

$$U_m = \frac{G_{Na}E_{Na} - G_K E_K - G_{Cl}E_{Cl}}{G_{Na} + G_K + G_{Cl}}. \quad (1.6)$$

Це рівняння відоме як рівняння паралельних провідностей (порівняйте його з рівнянням Голдмана). Відповідно до нього  $U_m$  є зваженим середнім величин  $E_K$ ,  $E_{Na}$ ,  $E_{Cl}$ , що залежить від відносних провідностей. Цей вираз є вірним тільки для стаціонарних умов.

Оскільки роль іонів калію і натрію при протіканні біоелектричних процесів є першорядною, то в багатьох практичних задачах вплив інших іонів враховується введенням у модель паралельних провідностей єдиної ланки, що складається із джерела напруги  $E_l$  і провідності  $G_l$  (рис. 1.3). Ця ж ланка враховує струми витоку через мембрану.

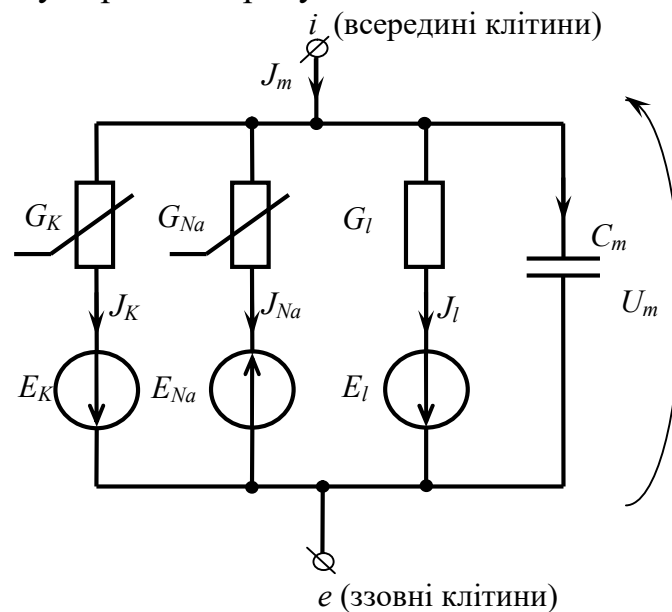


Рис. 1.3. Модель паралельних провідностей для мембрани клітини з незалежними провідними каналами для іонів  $K^+$ ,  $Na^+$

Потенціал на мембрані для схеми, наведеної на рис. 1.5, розраховується за формулою:

$$U_m = \frac{G_{Na}E_{Na} - G_K E_K - G_l E_l}{G_{Na} + G_K + G_l}. \quad (1.7)$$

### **Робоче завдання.**

1. Виконати дослідження функції чутливості іонселективного біонаносенсора. В якості аналізуємих речовин вибрати іони K, Na, Cl. Використовуючи рівняння Голдмана і модель паралельних провідностей, визначити максимальну чутливість.

2. За допомогою моделі паралельних провідностей виконати дослідження часу відгуку біонаносенсора. Змінюючи параметри моделі отримати мінімальний час відгуку.

## Лабораторна робота №2.

### Дослідження ДНК-секвенатора.

**Мета роботи:** дослідити нуклеотидну структуру ДНК та ознайомитися з принципом роботи ДНК-секвенатора.

### Теоретичні відомості.

В теперішній час проводяться роботи по створенню надточного та швидкого ДНК-секвенатора на основі нанопор. Новий нанопристрій здатен контролювати положення молекули ДНК в нанопорі з точністю до одного нуклеотида і може здійснити переворот в сучасній технології секвенування (визначення послідовності нуклеотидів в ДНК). Створення даного пристрою дозволить розшифровувати геном людини всього за декілька годин. При цьому, процедура не буде дорогою: її зможуть використовувати будь-які медичні установи.

Сутність методу полягає в зміні електричної провідності під час проходження ДНК через нанопору (рис.1,2).

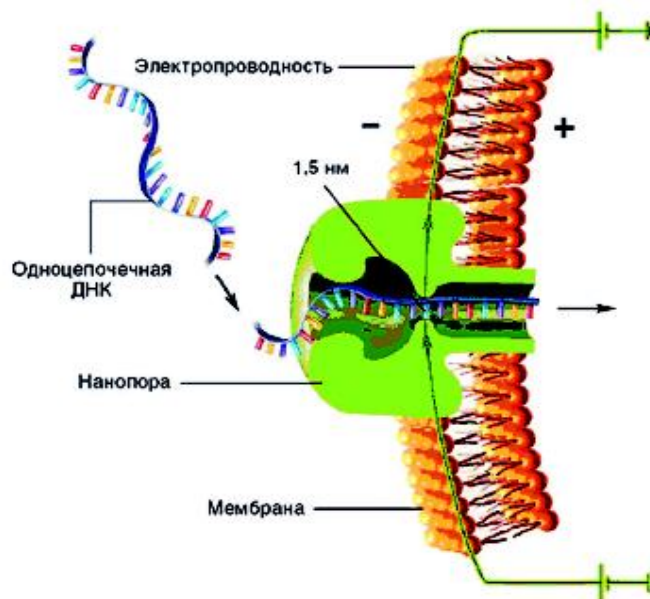


Рис. 1. Схема функціонування ДНК-секвенатора на основі нанопори.

Негативно заряджена одноланцюгова ДНК проходить крізь нанопору в мембрані, зовнішня поверхня якої має негативний заряд, а внутрішня – позитивний. Як тільки черговий нуклеотид перекриває внутрішній отвір в нанопорі, електропровідність мембрани (ток мембрани) змінюється.

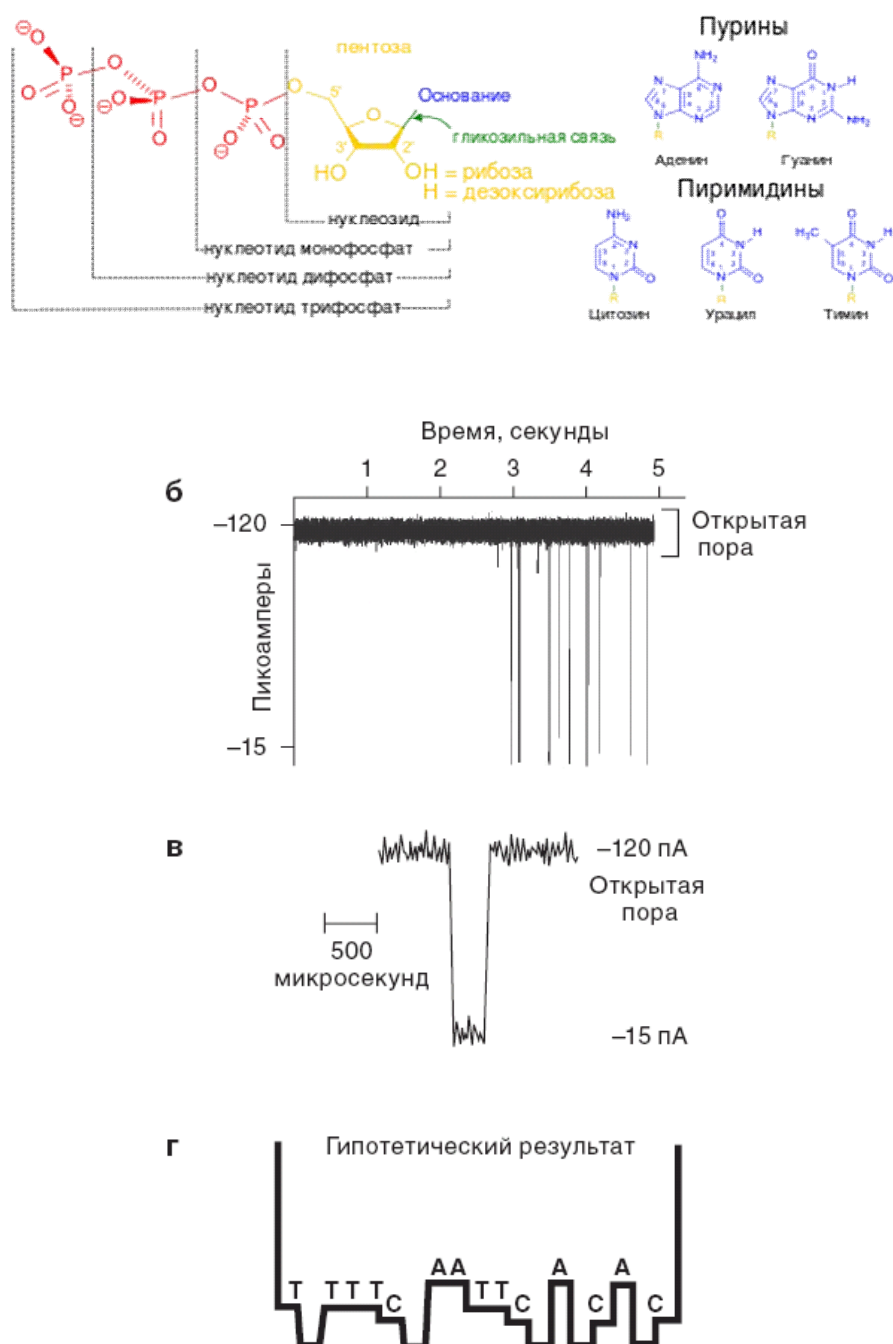


Рис.2. Сутність методу ДНК-секвенування на основі нанопор

Нуклеотиди різного типу, які складають ланцюжок ДНК, відрізняються хімічними та фізичними властивостями. Тому ступінь та час блокування нанопори кожним нуклеотидом різні (рис.2,б). Відповідно до цього, змінюється електрична провідність та ток мембрани (рис.2,в). Якщо вдасться істотно підвищити розрізняючу здатність методу, тоді кожне змінення електропровідності буде відповідати проходженню крізь нанопору одного нуклеотида, і по діаграмі, яка одержується на виході, можна буде зчитувати нуклеотидні послідовності (рис.2,г).

Секвенування генома людини зможе зайняти в цьому випадку приблизно 20 годин.

З метою дослідження функціонування наносеквенатора вченими було проведено експерименти за допомогою системи (рис.3), в склад якої входили синтетична кремній-нітридна мембрана ( $SiN_3$ ), розчин електроліту (з іонами K-Cl) та електроди (Ag/AgCl). В мембрані електронно-променевим методом було зроблено нанопору (діаметром 1-3 нм).

В область негативно зарядженого електроду розмістили молекули ДНК і приклали напругу до мембрани, вимірюючи струм крізь нанопору. Під час проходження ДНК крізь нанопору іонний струм значно зменшувався.

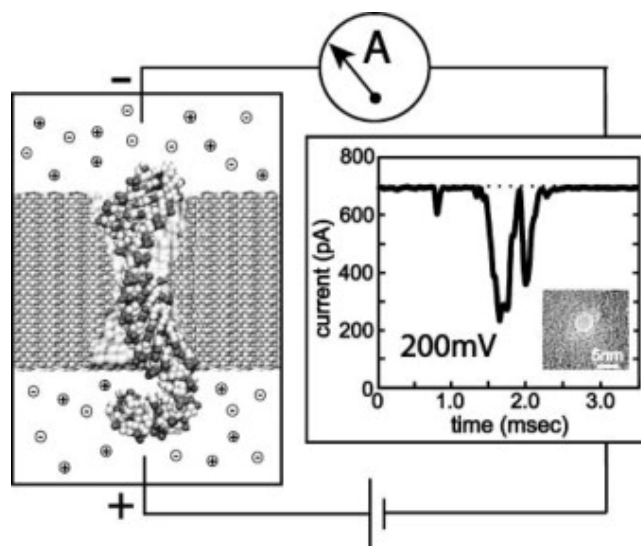


Рис.3. Схема системи для вимірювання іонного струму крізь нанопору

На підставі виконаних експериментів вчені побудували математичну модель, яка змогла описати процес транспорту ДНК крізь нанопору.

Процес комп'ютерного моделювання починався з побудови моделі кремній-нітридної мембрани (рис. 4.1, 4.2), потім створення моделі нанопори у вигляді конуса (рис.4.3). Для модельного експерименту необхідно розташувати молекули ДНК перед нанопорою і додати воду та іони з обох сторін мембрани (рис.4.4).

Моделювання процесу транспорту молекули ДНК крізь нанопору треба починати з дії електричного поля на систему. Потенціал зміщення  $V_{bias}$ , який діє на систему, залежить від значення напруженості електричного поля  $E$  та розміру системи  $Lz$ :

$$V_{bias} = -ELz$$

Результуючий трансмембранний потенціал  $V(z)$  неоднорідний (рис.4.5) і його можна апроксимувати виразом:

$$V(z) / V_{bias} = 1/\pi \operatorname{Arctan}(-b(z-z_0) / L_{mem})$$

де  $z_0$  - відстань до центру мембрани,  $L_{mem}$  – товщина мембрани,  $b$  - геометричний фактор (змінюється від 8 до 12).

Гradient потенціалу діє на молекулу ДНК вздовж нанопори (рис.4.6), а також викликає змінення іонного струму крізь мембрану.

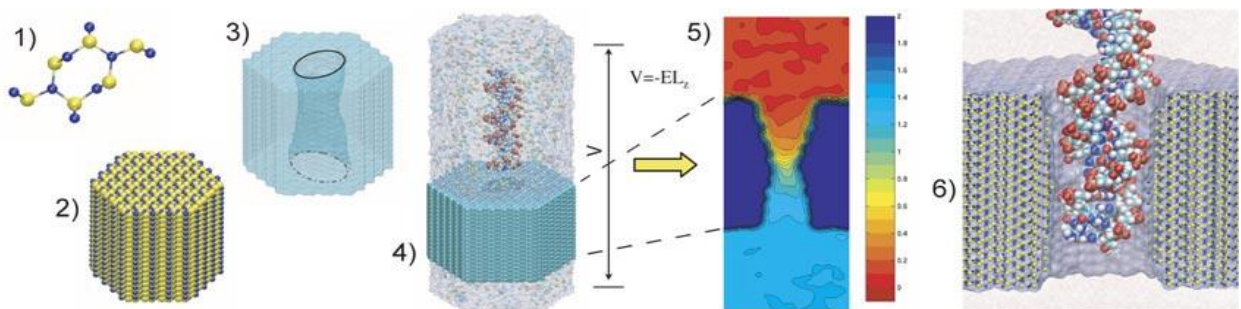


Рис.4. Етапи моделювання транспорту молекули ДНК крізь нанопору



Згідно рівняння Нернста-Планка щільність іонного струму крізь мембрану може бути знайдена за формулою:

$$\vec{J} = -ZD \left( \vec{\nabla} N + \frac{Z}{q} \frac{N}{\phi_T} \vec{\nabla} \phi \right)$$

де  $Z$  – заряд іона,  $D$  – коефіцієнт дифузії,  $N$  – концентрація іонів як функція координат,  $\phi_T$  – тепловий потенціал,  $q$  – заряд електрона,  $\phi$  – потенціал електричного поля всередині мембрани.

Числові експерименти продемонстрували зміну іонного струму в процесі транспорту молекули ДНК крізь нанопору: коли молекула входить у нанопору, іонний струм зменшується (рис.5).

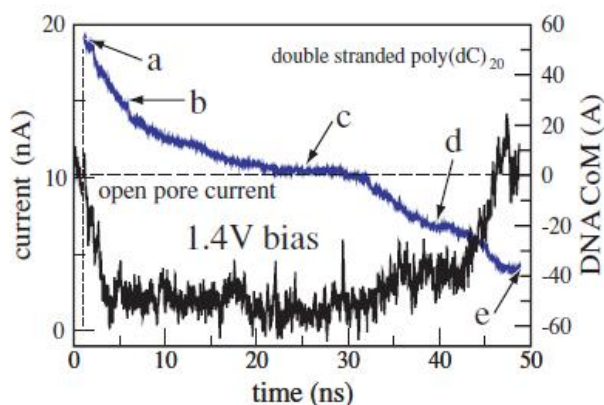


Рис.5. Результати комп'ютерного моделювання іонного струму (нижня лінія) та відстані від центра маси молекули до центра мембрани (верхня лінія) під час транспорту молекули ДНК крізь нанопору: ДНК входить в нанопору; б) фрагмент ДНК знаходиться в нанопорі; с) ДНК проходить найвужчу частину нанопори і змінює свою конформацію (починає розплітатися); д) фрагмент ДНК виходить з нанопори; е) ДНК залишає нанопору.

Комп'ютерне моделювання показало, що в процесі дії сильного електричного поля на нанопору можна протиснути крізь неї молекулу ДНК з діаметром більшим за діаметр нанопори. Це явище пояснюється тим, що електричне поле стискає та розплітає молекулу ДНК.

Моделювання методом молекулярної динаміки дозволило проаналізувати систему (розміром 10-30 нм та кількістю атомів до 200000), а також отримати зображення, які демонструють процес транспорту ДНК крізь нанопору (рис.6).

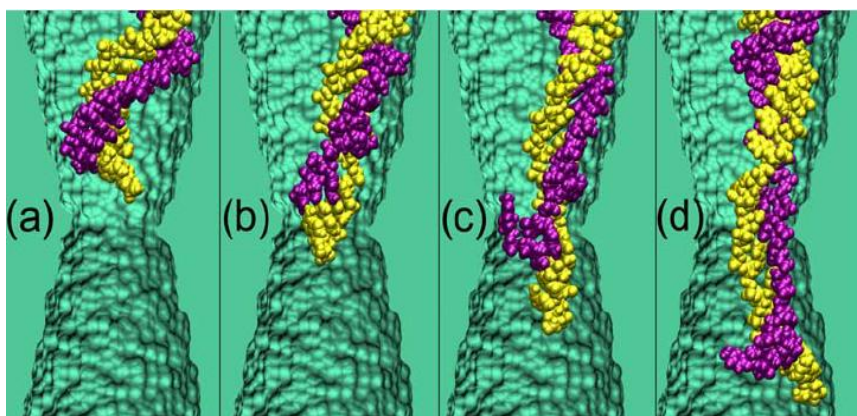


Рис.6. Результати комп'ютерного моделювання: етапи проходження молекули ДНК крізь нанопору

Розпочато роботи по створенню ДНК-транзистора, за допомогою якого буде виконуватися ефективне секвенування генома. **ДНК-транзистор** - це довга нанопора з низкою напівпровідникових та металічних добавок, всередині якої знаходиться довга молекула ДНК (рис.7). Діаметр нанопори повинен бути всього кілька нанометрів. Всередині нанопори (ДНК-каналу) завдяки добавкам розташовуються заряди, зрівнянні із зарядами одиничних електронів. Через різницю потенціалів між центральним та боковими електродами формується електростатична ловушка для ДНК. Зміна частоти напруги приводить до руху молекули всередині пори із визначеною точністю до одного нуклеотіда (раніш цього досягти не вдавалося). Нанопори для ДНК-транзисторів можна виготовляти в великих кількостях за допомогою сучасних методів мікроелектронного виробництва.

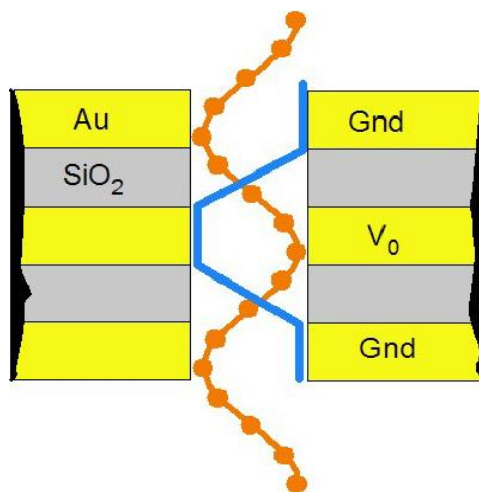


Рис.7. Схематичне зображення ДНК-транзистора

Для порівняльної оцінки нового способу секвенування на основі нанопор слід згадати, що процедура секвенування ДНК однієї людини за допомогою існуючої техніки займає декілька місяців та коштує мільйони доларів. Звичайно, ці фактори не дозволяють вивчати геноми пацієнтів з метою лікування генетичних захворювань. Створення масового виробництва розглянутого пристрою швидкого секвенування зробить аналіз ДНК звичайною клінічною процедурою (подібно до аналізу крові). Це стане знаменною віхою в розвитку світової медицини.

### **Завдання роботи**

1. Відповідно до варіанту обрати вихідні параметри системи.
2. Розрахувати трансмембранний потенціал системи для двох фрагментів ланцюга ДНК.
3. Розрахувати іонний струм крізь мембрану системи для двох фрагментів ланцюга ДНК. Зобразити зміну іонного струму та відстані від центра маси молекули до центра мембрани під час транспорту молекули ДНК крізь нанопору.
4. Проаналізувати та зробити висновки щодо величини струму, який створює певний вид нуклеотиду ДНК.

### **Контрольні питання**

1. Мета створення ДНК-секвенатора.
2. Принцип дії ДНК-секвенатора на основі нанопори.
3. Проаналізуйте зміну іонного струму під час транспорту молекули ДНК крізь нанопору в залежності від відстані від центра маси молекули до центра мембрани.
4. Принцип дії ДНК-транзистора.

Варіанти вихідних параметрів системи та фрагментів ланцюга ДНК

	Фрагмент ланцюга ДНК		Розміри системи, нм
	Г Т Г Т Т Т	Г А Г Ц А Т	1-3
	Г Т А Ц Ц А	А Ц Т Т Г Ц	
	А А Ц Т Г Г	Г Т Г Т Т Т	
	А Ц Т Т Г Ц	Т А Ц А А Ц	
	Г А Г Ц А Т	Г Т А Ц Ц А	
	Г Т Г Г А Ц	Г А Г Ц А Т	2-5
	Г Т Г Т Т Т	А А Ц Т Г Г	
	Т А Ц А А Ц	Г Т Г Т Т Т	
	Г Т А Ц Ц А	Г Т Г Г А Ц	
0	Г А Г Ц А Т	А Ц Т Т Г Ц	
1	Г Т Г Г А Ц	Г А Г Ц А Т	2-4
2	Г Т Г Т Т Т	Г Т А Ц Ц А	
3	А Ц Т Т Г Ц	Г Т Г Т Т Т	
4	Г Т А Ц Ц А	А А Ц Т Г Г	
5	Г А Г Ц А Т	Т А Ц А А Ц	
6	А Ц Т Т Г Ц	Г А Г Ц А Т	1-4
7	Г Т Г Т Т Т	Г Т Г Г А Ц	
8	Г Т А Ц Ц А	Г Т Г Т Т Т	
9	Т А Ц А А Ц	А Ц Т Т Г Ц	
0	Г А Г Ц А Т	Г Т А Ц Ц А	

### Лабораторна робота №3.

#### Моделювання біосенсорної наносистеми.

**Мета роботи:** Ознайомлення з основами побудови мультисенсорної системи на основі біонаносенсорів та методами її моделювання на субклітинному рівні.

#### Теоретичні відомості

##### 1.Інтелектуальні біонаносенсорні системи

*Система «Електронний ніс».* В основі біонаносенсора знаходиться транзистор з вуглецевої нанотрубки, на поверхню якої нанесені нюхові білки-рецептори (рис. 1). Ці білки є основними чутливими компонентами клітин носа, завдяки яким люди можуть відчувати різні запахи. Електрохімічні процеси, що виникають при взаємодії білка і хімічних речовин в аналізованому повітрі, впливають на провідність польового транзистора. При цьому змінюється значення сили струму. Зміна сили струму вказує на концентрацію в повітрі певної речовини, а вид речовини, на яку реагує сенсор, визначається видом білка-рецептора, нанесеного на поверхню нанотрубки.

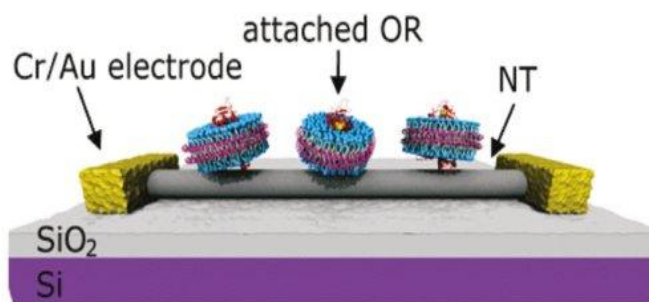


Рис. 1. Схематичне зображення пристрою «електронний ніс»

*Система «Електронний язик»* — аналітичний пристрій для якісного і кількісного аналізу багатокомпонентних розчинів, що складається з набору неспецифічних (неселективних) біосенсорів з перехресною чутливістю (чутливість до декількох компонентів аналізованої речовини).

Для обробки сигналів даної мультисенсорної системи використовуються математичні методи розпізнавання образів (штучні нейронні мережі, аналіз по головним компонентам, нечітка логіка). Такі системи застосовуються для визначення  $\text{Ca}_2^+$ ,  $\text{Mg}_2^+$ , фосфатів та інших іонів в крові людини (рис. 2).

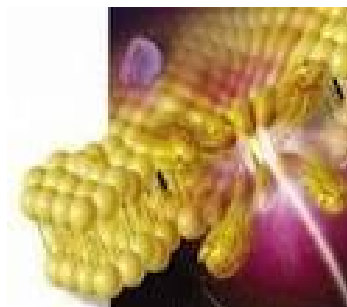


Рис. 2. Образне уявлення про роботу системи «Електронний язик»

## 2.Основи класифікації сигналів.

Класифікатори використовують правила рішення, за якими на базі формального опису на їх входах приймається рішення, до якого класу віднести сигнал. При цьому, методи класифікації можна розділити на:

- ознакові;
- структурні (синтаксичні);
- комбіновані.

Ознаковий образ сигналу  $S(t)$  можна подати  $n$ -вимірним вектором ознакових змінних, тобто  $X=[x_1, x_2, \dots, x_n]^t$  або

$$X = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ x_n \end{bmatrix}$$

Ознакові змінні або ознаки можуть описувати як кількісні так і якісні властивості сигналів. В залежності від властивостей значень, які мають ознаки, розрізняють наступні змінні:

1). **неперервні** – відображають кількісні змінні і можуть мати нескінченну множину значень (значення під час вимірювань).

2). **дискретні** – відображають кількісні та якісні властивості, які обмежені кінцевою кількістю значень (значення при обчисленнях, при порівнянні з пороговими значеннями).

3). **логічні або бінарні** – являють собою особливий випадок дискретних значень (мають тільки два значення). Відображають в першу чергу якісні властивості.

Найчастіше вектори образів розглядаються як точки  $n$ -вимірного Евклідова простору. Множина образів, що належить до одного класу, відповідає сукупності точок, які розсіяні в деякій області (наприклад, простору вимірювань  $\omega_1$  та  $\omega_2$ ).

Простий приклад для випадку двох класів ( $K_1$  и  $K_2$ ). Можна припустити, що класи  $K_1$  та  $K_2$  являють собою різні вікові групи людей.

Кожний образ характеризується двома ознаками (вимірюваннями): ростом ( $x_1$ ) і вагою ( $x_2$ ). Вектори образів будуть мати вигляд:  $X=[x_1, x_2]^t$ . Кожний вектор образа можна вважати точкою двовимірного простору. Як впливає з рисунку, ці класи утворюють непересічні множини.

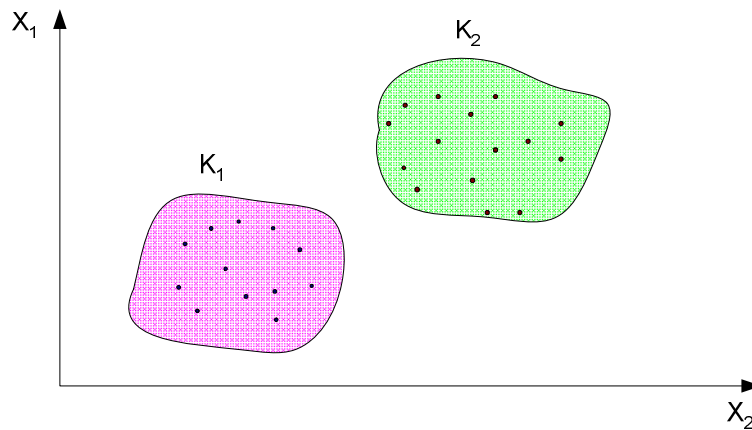


Рис. 3. Два непересічні класи образів

Образ, який подано за допомогою набору ознак, обробляє класифікатор. В загальному випадку, схему класифікатора можна представити:

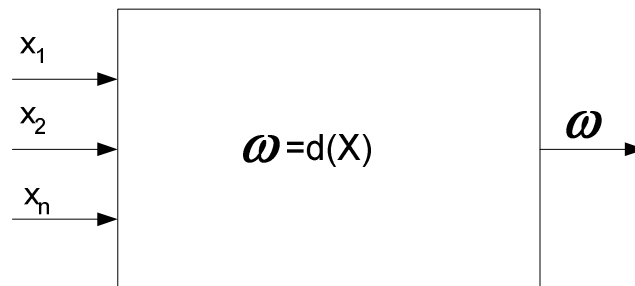


Рис. 4. Схема класифікатора.

Класифікатор має  $n$  входів (для кожного признака свій вход) і єдиний вихід, на якому згідно правила рішення  $d(X)$  виникає сигнал  $\omega_j$ , *рівень якого* відповідає одному з  $K$  класів.

(Простір образів правилом рішення  $d(X)$  ділиться на  $R$  підпросторів  $R_j$ ,  $j=1, \dots, R$ .)

Під **навчанням** розуміють сукупність алгоритмів вибору формального опису й правил рішення для класифікаторів.

Підстроювання параметрів правил рішення, тобто навчання класифікатора, засновано на знаннях про вибрані елементи формального опису сигналів.



Існують наступні способи навчання об'єкту класифікаторів:

- навчання з досконалим вчителем;
- навчання з недосконалим вчителем;
- навчання без вчителя.

Вчителем не обов'язково повинна бути людина. Інформацію щодо необхідної класифікації може надати пристрій. При **досконалому вчителі** вважають, що інформація про необхідну класифікацію являється завжди правильною. При **недосконалому вчителі** вважають, що він може допускати помилки. При навчанні **без вчителя** класифікатор не має інформації про необхідну класифікацію ззовні, проте, таку інформацію він сам формує з свого вихідного сигналу та імовірнісних властивостей класів.

## **2. Технології розпізнавання образів.**

Процес **розпізнавання образів** містить:

- формування ознак, які створюють досліджуваний образ;
- зниження розмірності простору ознак - селекцію ознак (в процесі роботи класифікатора), тобто вибір суттєвих та несуттєвих ознак; екстракцію ознак, тобто видалення несуттєвих ознак;
- навчання класифікатора;
- класифікацію образів.

Якщо кількість ознак стає недостатньою для якісної класифікації (постановки діагнозу) на основі виділених класів, то вибирають додаткові ознаки і переходять до селекції.

### **2.1. Формування ознак.**

Початкове формування ознак  $x_j$  (из  $X = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}^t$ ) є результатом фізичного експеримента або теоретичного розгляду проблеми чи явища. При цьому, необхідно користуватися декількома загальними правилами:

- виконувати вибір величин з мінімальною дисперсією всередині класу для того, щоб їх розподіл не накладався один на інший (рис. 5);
- вибирати величини с максимальними відстанями між класами. (рис. 5 - навіть якщо їх дисперсії однакові, то класифікація не викличе труднощів).

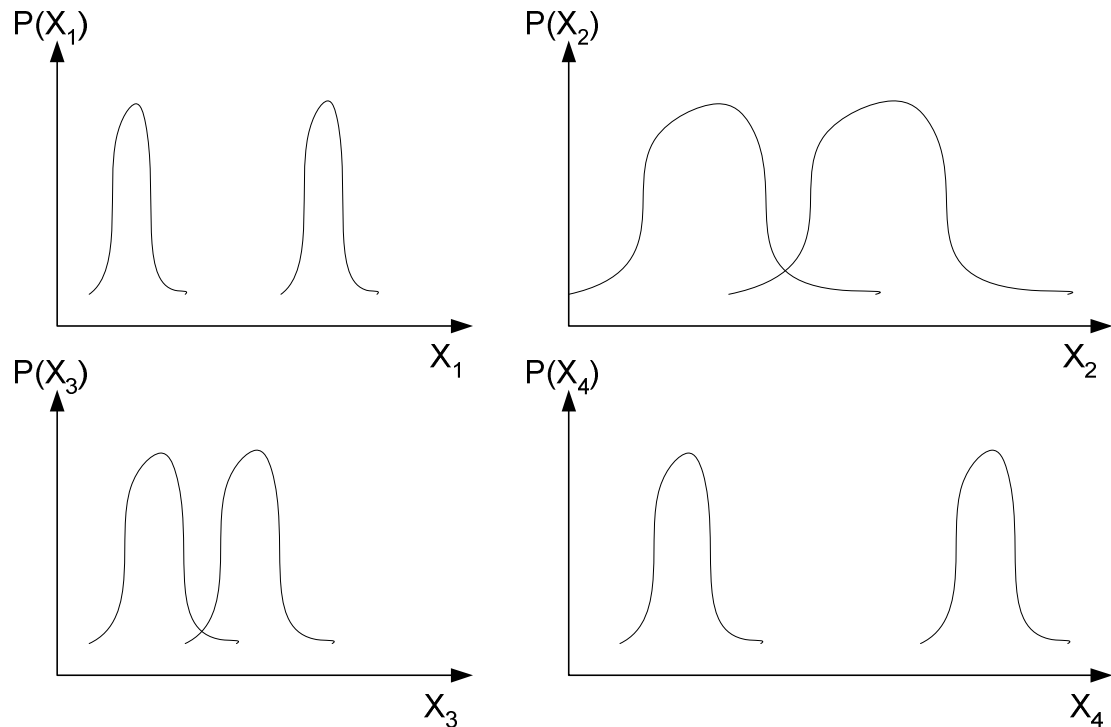


Рис. 5. Принципи формування ознак

Формування ознак можна формалізувати як перетворення  $T$  сигналу  $S(t)$  до вектора ознак  $Y$ . У якості оператора  $T$  можуть бути ортогональні перетворення (наприклад, Фур'є, Адамара, Хаара, Карунена-Лоева і т.д.)

$$Y = T\{S(t)\}$$

## 2.2. Селекція ознак.

Після формування ознак необхідно оцінити їх "вагу".

Виконується перехід  $Y^m \rightarrow X^n$ ,  $n \leq m$  до простору з меншою розмірністю.

Зниження розмірності простору  $m$  можна досягти двома шляхами: селекцією та екстракцією.

**Селекція ознак** значить виявлення несуттєвих змінних (які практично не впливають на рішення задачі класифікації). Найбільш відомими є **алгоритми прямої та зворотної селекції**, в процесі яких додають чи віднімають ознакові змінні і на кожному кроці розраховують один з **критеріїв** (відстань між класами):

- відношення дисперсій - дисперсія між класами до дисперсії всередині класів.

Дисперсію всередині класа можна визначити дисперсійною матрицею:

$$D(X) = \sum_{j=1}^R P(\omega_j) \int (X - \mu_j)(X - \mu_j)^t p(X / \omega_j) dX$$

де  $p(X / \omega_j)$  - умовні щільності вірогідностей появи образу  $X$  у класах  $\omega_j$ ;  $P(\omega_j)$  - апріорні вірогідності появи класів  $\omega_j$  під час класифікації;

$\mu_j = \int_X X_p(X / \omega_j) dX$  - математичні очікування ознак образів.

Дисперсію між класами можна обчислити за формулою:

$$B(X) = \sum_{j=1}^{R-1} \sum_{s=j+1}^R P(\omega_j) P(\omega_s) (\mu_j - \mu_s)(\mu_j - \mu_s)^t$$

Якщо для матриці дисперсій існує зворотня матриця, тоді усі дисперсійні властивості можна оцінити за єдиним критерієм:

$$J_{j1}(X) = tr(D^{-1}(X)B(X))$$

де  $tr$  - слід матриці (сума її діагональних елементів).

В процесі класифікації важливі ті ознаки, які мають меншу дисперсію всередині класа та в той же час найбільшу відстань (дисперсію) між класами.

### 2.3. Екстракція ознак.

Під час ортогонального перетворення ознак виконується відкидання мало суттєвих, при цьому, рішення про суттєвість виконується в області трансформант. Після відкидання знову отримують масив ознак, але з меншою розмірністю.

### 2.4. Алгоритм класифікації за мінімальною відстанню.

Найчастіше для виконання процедури класифікації розраховується **відстань** між досліджуваним образом  $X$  і еталоном, який відповідає стандартному образу певного класу  $X_E$ . При цьому, до якого з еталонів **відстань буде найменшою**, тоді до класу даного еталона і відносять досліджуваний образ  $X$ .

Еталон (образ  $X_E$ ) можна подати  $X_E = [x_{1E}, x_{2E}, \dots, x_{RE}]^T$ , де  $R$  – кількість підпросторів, на яке ділиться весь простір образів ( $j=1, \dots, R$ ). Якщо вибирається евклідова відстань, тоді правило рішення буде мати вигляд:

$$d(X) = \min \|X_{jE} - X\| = \|X_{SE} - X\|, \quad j = 1, \dots, R$$

где  $X_{SE}$  – *шуканий еталон* з класу  $S$  для образа  $X$ .

### Робоче завдання.

1. Розробити блок обробки даних для мультисенсорної системи на основі іонселективних біонаносенсорів, застосовуючи алгоритми розпізнавання образів. В якості аналізуємих речовин вибрати іони K та Na.
2. Провести дослідження мультисенсорної системи, використовуючи модель паралельних провідностей та рівняння Голдмана для мембрани клітини.

## *Лабораторна робота №4.*

### **Моделювання електрофізіологічних властивостей серцевих клітин**

**Мета роботи:** Ознайомлення з особливостями та методами моделювання електричної активності кардіоміоцитів.

### **Теоретичні відомості.**

#### **1. Структура та функції клітин серця**

**Кардіоміоцити** – м'язові клітини серця, які є основою м'язових волокон серця. Форма клітин – прямокутна, в центрі розміщується 1-2 ядра, що мають видовжену або овальну форму. В периферійній частині є цитоплазма, що багата на міофібрили. Ознака серцевого м'яза – контакт двох сусідніх кардіоміоцитів – вставний диск.

Виділяють робочі кардіоміоцити, і ті, що входять в провідникову систему серця (атипові). Робочі кардіоміоцити складають основну масу міокарду. Міокард – назва м'язового шару серця, що становить основну частину його маси. Головна особливість міокарду – створення ритмічних рухів під час фаз скорочення та розслаблення.

Кардіоміоцити мають усі органели загального характеру:

1. Ядро;
2. Апарат Гольджи - частіше за все представлений 3-4 цистернами і скупченням дрібних бульбашок, зазвичай розташовується біля полюсів ядра;
3. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум – слабо розвинений;
4. Мітохондрії - з числа органел загального характеру досягають найбільшого розвитку і займають значний об'єм кардіоміоцитів шлуночків серця. Характерною особливістю саме мітохондрій кардіоміоцитів є наявність специфічних структур – міжмітохондріальних контактів;

## 5. Лізосоми.

До спеціалізованих органел відносять:

1. Міофібрили (по структурі саркомерів схожі з міофібрилами скелетних м'язів, проте відрізняються за будовою деяких білків, наприклад, відрізняються по біохімічному складу легких ланцюгів міозину);
2. Саркоплазматичний ретикулум.

**Кардіоміоцити** – клітини неправильної циліндричної форми довжиною 100-150 мкм і діаметром 10-20 мкм. Окремі клітини з'єднуються між собою нерегулярно. Кожен кардіоміоцит має 1-2 овальних подовжених ядра, таких, що лежать в центрі і оточені міофібрилами, розташованими по периферії строго прямолінійно.

На обох полюсах ядра видно подовжені зони цитоплазми, що позбавлені міофібрил. Дуже характерні контакти двох сусідніх кардіоміоцитів, що мають вигляд звивистих темних смужок, вставних дисків, які активно беруть участь в передачі збудження від клітини до клітини. За допомогою дисків кардіоміоцити з'єднуються один з одним. Ці клітини багаті мітохондріями.

На поверхневій ЕКГ відображається електрична активність тільки робочих кардіоміоцитів.

Виділяють такі типи кардіоміоцитів:

**Скорочувальні кардіоміоцити:** Скорочувальні кардіоміоцити утворюють основну частину міокарда. Вони містять в собі 1-2 ядра в центральній частині клітини, а міофібрили розташовуються по периферії. Місця з'єднання кардіоміоцитів називаються виставленими дисками, в них знаходять щілинні з'єднання (нексуси) і десмосоми. Форма клітин в шлуночках – циліндрична, в передсердях – неправильна. Кардіоміоцити покриті сарколемою, що складається з базальної мембрани, в яку вплітаються тонкі колагенові і еластичні волокна, що утворюють «зовнішній скелет» кардіоміоцитів – ендозимій. Базальна мембрана кардіоміоцитів містить велику кількість глікопротеїнів, які мають змогу

зв'язувати  $\text{Ca}^{2+}$ . Вона приймає участь у перерозподілі іонів  $\text{Ca}^{2+}$  в циклі скорочення – розслаблення.

***Секреторні кардіоміоцити:*** Секреторні кардіоміоцити зустрічаються переважно в правому передсерді і у вушках серця. В цитоплазмі цих клітин розташовуються гранули, які містять пептидний гормон. При розтягнення передсердь секрет поступає у кров і діє на збиральні трубочки нирки, клітини зони наднирників, які приймають участь в регуляції об'єму позаклітинної рідини і рівня артеріального тиску.

***Провідні серцеві міоцити:*** Провідні серцеві міоцити або атипової кардіоміоцити, забезпечують ритмічну координацію скорочень різних відділів серця, завдяки своїй здатності до генерації і швидкому проведенню електричних імпульсів. Сукупність атипових кардіоміоцитів формує так звану провідну систему серця.

Розрізняють три типи м'язових клітин, які в різних співвідношеннях знаходяться в різних відділах цієї системи.

*Перший тип провідних міоцитів* – це Р-клітини, або пейсмекерні клітини, - водії ритму. Вони світлі, мілкі і відросчаті. Ці клітини зустрічаються в синусному і передсердно-шлуночковому вузлі і в міжвузлових шляхах. Вони слугують головним джерелом електричних імпульсів серця і забезпечують ритмічне скорочення серця. Високий вміст вільного кальцію і цитоплазмі цих клітин при слабкому розвитку саркоплазматичної мережі забезпечує можливість клітин синусного вузла генерувати імпульси до скорочення.

*Другий тип провідних міоцитів* – це перехідні клітини. Вони становлять основну частинку провідної системи серця. Це тонкі, витягнуті клітини, що трапляються переважно у вузлах (на їх периферійній частині), але проникають і в прилеглі ділянки передсердь. Функціональне значення перехідних клітин полягає в передачі збудження від Р-клітин до клітин пучків Гіса і робочому міокарду.

*Третій тип* – це клітини Пуркін'є, які часто лежать пучками. Вони є світлішими і ширшими, ніж скорочувальні кардіоміоцити, але в їх складі мало

міофібрил. Ці клітини переважають в пучках Гіса і його гілках. Від них збудження передається на скорочувальні кардіоміоцити міокарда шлуночків.

М'язові клітини провідної системи в стовбурі і розгалуженнях ніжок стовбура провідної системи розташовуються невеликими пучками, вони оточені прошарками рихлої волокнистої сполучної тканини. Ніжки пучка розгалужуються під ендокардом, а також в товщі міокарда шлуночків.

Технологія *Lab-on-Chip* є новим інструментом *in vitro* для отримання та вивчення кардіоміоцитів, як правило, отриманих з індукованих людиною плюрипотентних стовбурових клітин (*hiPSC*). Ці клітини можна диференціювати на різноманітні кардіоміоцити (*hiPSC-CM*), а потім використовувати для розробки моделей серцевих захворювань, скринінгу лікарських засобів та регенерації тканин для клітинної терапії. Ключовим висновком цих досліджень є схожість електрофізіологічних властивостей клітин *hiPSC-CM* та кардіоміоцитів людини.

Однак експериментальні дослідження, що використовують *hiPSC-CM*, є досить складними і мають свої переваги, а також обмеження, які пов'язані з підтриманням умов навколишнього середовища та стимуляції в часі, невеликою кількістю вироблених кардіоміоцитів та їх незрілою природою. Результатом є обмежена інформація про електрофізіологічні властивості *hiPSC-CM*.

Вивчення електричної активності *hiPSC-CM* може бути забезпечено за допомогою обчислювального моделювання електрофізіологічних властивостей кардіоміоцитів.

## **2. Дослідження електричної активності серця**

Збудження серця (деполяризація кардіоміоцитів) передуює його скороченню.

В стані спокою кардіоміоцити поляризовані: внутрішня поверхня їх мембрани заряджена негативно, зовнішня – позитивно. Потенціал спокою робочих кардіоміоцитів становить приблизно -90 мВ. Під дією надпорогових подразників виникає потенціал дії (ПД). Він починається зі швидкої



деполяризації, при якій знак заряду мембрани змінюється на протилежний (мембранний потенціал на піку ПД рівний приблизно +30 мВ).

Деполяризація, яка виникає в будь-якій ділянці серця, поширюється у вигляді хвилі вздовж міокарду передсердь і шлуночків. В фазу реполяризації ПД, мембранний потенціал повертається до рівня спокою.

В нормі збудження серця відбувається за допомогою водія ритму першого порядку синусного вузла. В його клітинах ПД виникає самовільно – тобто ці клітини мають функцію автоматизму. Спочатку хвиля деполяризації поширюється передсерддями і викликає їх скорочення, потім проходить через атріовентрикулярний вузол и входить в пучок Гіса. Він ділиться на дві ніжки (праву і ліву), ліва ніжка – на дві гілки (передню і задню). Кінцевий ланцюг провідної системи – волокна Пуркінє, завдяки яким збудження проводиться до міокарда шлуночків.

Завдяки наявності цієї розгалуженої провідної шлуночкової системи, їх збудження відбувається синхронно.

На заключному етапі хвиля деполяризації поширюється через товщину міокарда (від ендокарда до епікарда), і відбувається скорочення шлуночків.

Основна концепція, яка пояснює походження зубців ЕКГ і в нормі, і при патології – це векторна теорія. Основні її постулати наступні:

- Оскільки хвилі деполяризації і реполяризації мають напрямок і величину, їх можна представити у вигляді векторів;
- В кожен момент часу вектори окремих хвиль, які виникають в серці, додаються, утворюючи сумарний струм;
- ЕКГ відображає зміну цього вектора (його проекцію на поверхню тіла) у часі.

Цим пояснюються обмеження, як чутливості ЕКГ (потенціали окремих ділянок міокарда можуть нівелювати одне одного, або виявитися дуже слабкими, і не відображатися на ЕКГ), так і її специфічність (один і той же сумарний вектор може бути отриманий в результаті збільшення, або зменшення окремих векторів різного напрямку).

## 2.1. Потенціал спокою кардіоміоцитів

Основна причина виникнення на мембрані електричного потенціалу (мембранного потенціалу) – наявність специфічних іонних каналів. Транспорт іонів через ці канали відбувається по градієнту концентрації, або під дією мембранного потенціалу. В незбудженій клітині частина  $K^+$ -каналів знаходиться у відкритому стані та іони  $K^+$  постійно дифундують з клітини в оточуюче середовище (по градієнту концентрації). Виходячи за межі клітини, іони  $K^+$  забирають позитивний заряд, що створює потенціал спокою, рівний, приблизно, - 60 мВ. Згідно до коефіцієнтів проникності для різних іонів, можна стверджувати, що канали для  $Na^+$  і  $Cl^-$ , переважно закриті. Іони фосфату і органічні аніони, наприклад білки, практично не можуть проходити крізь мембрану.

В мембранах клітини містяться канали, які є проникними для іонів  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и  $Cl^-$ . Ці канали найчастіше знаходяться в закритому стані і відкриваються лише на короткий проміжок часу. Канали підрозділяють на потенціал-керовані (або електрозбудливі), наприклад швидкі  $Na^+$ -канали, і ліганд-керовані (або хемозбудливі), наприклад ниткоподібні холінергічні рецептори. Канали – це інтегральні мембранні білки, що складаються з багатьох субодиниць. В залежності від зміни мембранного потенціалу або взаємодії з відповідними лігандами, нейромедіаторами і нейромодуляторами, білки-рецептори можуть знаходитися в одному з двох конформаційних станів, що й визначає проникність каналу («відкритий» - «закритий» - і т.д.).

## 2.2. Потенціал дії кардіоміоцитів

Потенціал дії (ПД) робочого кардіоміоцита (рис.1) розвивається у відповідь на електричну стимуляцію (зазвичай зі сторони сусідніх клітин, за рахунок наявності щільних вставних дисків, або нексусів (міжклітинних

контактів, що забезпечують прямий перенос іонів і невеликих молекул між сусідніми клітинами).

На графіку ПД серцевих клітин виділяють 4 фази, що пояснюються процесами в клітині:

1. *Фаза швидкої деполяризації.* Першою фазою (фаза 0) ПД робочого кардіоміоцита є фаза швидкої деполяризації. Іонний струм через нексуси призводить до деполяризації мембрани робочого кардіоміоцита до критичного рівня деполяризації (приблизно -60 мВ).

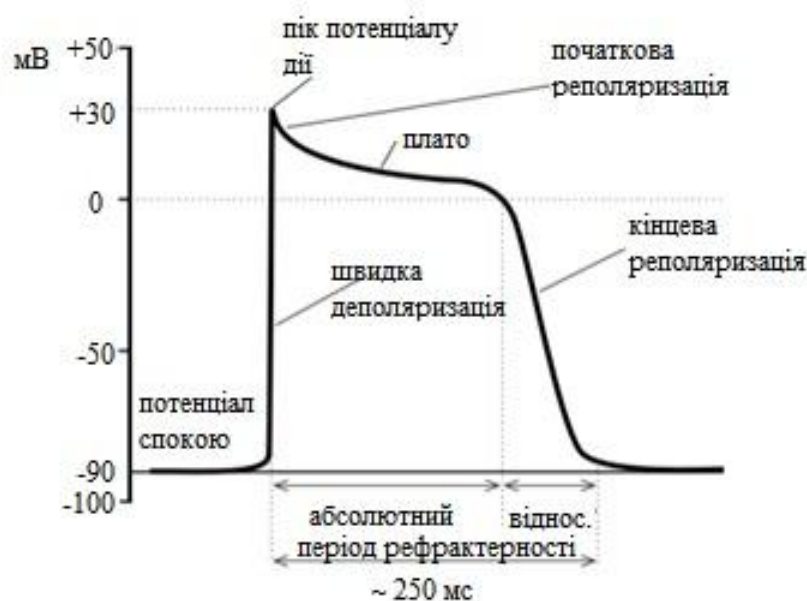


Рис. 1. Потенціал дії робочого кардіоміоцита

Це викликає відкриття швидких потенціалозалежних натрієвих каналів на мембрані кардіоміоцита. Через ці канали іони натрію по концентраційному градієнту проходять крізь мембрану всередину клітини, викликаючи подальшу деполяризацію мембрани до рівня в +20 - +30 мВ. Це значення може змінюватися в залежності від концентрації іонів натрію в міжклітинній речовині. Нормальна концентрація натрію складає приблизно 140 мЕкв/л. При зниженні цього показника до, приблизно, 20 мЕкв/л кардіоміоцити стають незбудливими. В результаті деполяризації мембрани кардіоміоцита більшість натрієвих каналів переходять в інактиваційний стан і струм  $\text{Na}^+$  в клітину слабшає.

2. *Фаза швидкої деполяризації.* Першою фазою (фаза 0) ПД робочого кардіоміоцита є фаза швидкої деполяризації. Іонний струм через нексуси призводить до деполяризації мембрани робочого кардіоміоцита до критичного рівня деполяризації (приблизно -60 мВ). Це викликає відкриття швидких потенціалозалежних натрієвих каналів на мембрані кардіоміоцита. Через ці канали іони натрію по концентраційному градієнту проходять крізь мембрану всередину клітини, викликаючи подальшу деполяризацію мембрани до рівня в +20 - +30 мВ. Це значення може змінюватися в залежності від концентрації іонів натрію в міжклітинній речовині. Нормальна концентрація натрію складає приблизно 140 мЕкв/л. При зниженні цього показника до, приблизно, 20 мЕкв/л кардіоміоцити стають незбудливими. В результаті деполяризації мембрани кардіоміоцита більшість натрієвих каналів переходять в інактиваційний стан і струм  $\text{Na}^+$  в клітину слабшає.

3. *Фаза швидкої початкової реполяризації.* Ця фаза (фаза 1) обумовлюється активацією швидких потенціалозалежних калієвих каналів. Іони калію виходять через ці канали з клітини, що призводить до реполяризації мембрани.

4. *Фаза плато (повільної реполяризації).* Фаза плато (фаза 2) розвивається в результаті урівноваження вихідного струму іонів калію вхідним струмом іонів кальцію. Їх активація відбувається під час деполяризації мембрани під час фази 0. В серці виявлені кальцієві канали двох типів : L і T. Кальцієві канали T-типу активуються при напрузі на мембрані приблизно в -50 мВ. Їх активація та інактивація відбувається швидко. Кальцієві канали L-типу активуються при мембранному потенціалі в -20 мВ, і залишаються відкритими відносно тривалий час (200 мс).

Вхідний струм калію під час фази плато забезпечується декількома струмами калієвих каналів. По мірі інактивації кальцієвих каналів баланс між вхідним струмом кальцію і вихідним струмом калію порушується, струм калію починає домінувати і фаза плато закінчується.

5. *Фаза швидкої кінцевої реполяризації.* Під час цієї фази (фази 3) вихідний струм калію повертає мембранний потенціал робочого кардіоміоцита до рівня мембранного потенціалу спокою. В цей час натрієві канали починають переходити з інактивуючого в закритий стан, що дозволяє робочому кардіоміоциту збуджуватись у відповідь на надпорогові збудники.

6. *Мембранний потенціал спокою.* Відновлення мембранного потенціалу спокою (фаза 4) супроводжується роботою  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, яка видаляє з клітин іони натрію, які проходять всередину клітини під час фази 0. Крім того, відбувається відновлення концентрації іонів кальцію за рахунок роботи  $3\text{Na}^+ - 1\text{Ca}^{2+}$  обмінника і  $\text{Ca}^{2+}$  - АТФ-ази. Мембранний потенціал спокою для робочого кардіоміоцита становить приблизно -85 - -90 мВ.

### 3. Обчислювальна модель електричної активності кардіоміоцитів

Для моделювання електрофізіологічних властивостей кардіоміоцитів на функціональному рівні може бути використана модель паралельних провідностей (див. розділ 1). Ця модель, яка заснована на підході Ходжкіна-Хакслі до нервової тканини, вдосконалена для кардіоміоцитів.

Модель пояснює основні іонні струми та зміну потенціалу мембрани клітини. Незалежні канали провідності використовуються для  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  та витоку.

Під час протікання крізь мембрану деполяризуючого струму  $I_d$ , як впливає з моделі паралельних провідностей, змінна складова мембранного потенціалу повинна задовольняти диференційному рівнянню

$$\frac{dv_m}{dt} = \frac{1}{C_m} (-I_K(v_m, t) - I_{Na}(v_m, t) - I_{Ca}(v_m, t) - I_l + I_d) \quad (1)$$

де  $I_K(v_m, t) = g_K(v_m, t)(V_{m0} + v_m + E_K)$  – часова залежність калієвого струму,

$I_{Na}(v_m, t) = g_{Na}(v_m, t)(V_{m0} + v_m - E_{Na})$  – часова залежність натрієвого струму,

$I_{Ca}(v_m, t) = g_{Ca}(v_m, t)(V_{m0} + v_m - E_{Ca})$  - часова залежність кальцієвого струму,

$I_l = g_l(V_{m0} + v_m + E_l)$  – струм витоку через мембрану,

$$I_d = \begin{cases} I_{d0}, & 0 < t < T_d \\ 0, & t \geq T_d \end{cases} \text{ – струм деполяризації,}$$

$T_d$  – тривалість дії деполяризуючого струму,

$$V_{m0} = \frac{-g_{K0}E_K + g_{Na0}E_{Na} + g_{Ca0}E_{Ca} - g_lE_l}{g_{K0} + g_{Na0} + g_{Ca0} + g_l} \text{ - потенціал спокою,}$$

де  $g_{K0}$ ,  $g_{Na0}$  і  $g_{Ca0}$  є провідністями для іонів калію, натрію та кальцію в спокої;  $E_K$ ,  $E_{Na}$  і  $E_{Ca}$  є потенціалами Нернста відповідно калію, натрію та кальцію;  $g_l$  - провідність протікання струму витоку через мембрану;  $E_l$  - електрорушійна сила джерела, яка імітує потенціал Нернста для іонів хлору, витоку та інших факторів, що впливають на мембранний потенціал.

Провідності для  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  каналів під час деполяризації мембрани описуються рівняннями Ходжкіна-Хакслі:

$$g_K(u_m, t) = g_{K\max} n^4(v_m, t)$$

$$g_{Na}(v_m, t) = g_{Na\max} m^3(v_m, t) h(v_m, t)$$

$$g_{Ca}(v_m, t) = g_{Ca\max} d(v_m, t) f(v_m, t)$$

де  $g_{K\max}$ ,  $g_{Na\max}$  and  $g_{Ca\max}$  – провідності мембрани для іонів калію, натрію та кальцію у випадку, коли всі канали мембрани знаходяться у відкритому стані,  $n$  – функція активації калієвих каналів;  $m$  – функція активації та  $h$  – функція інактивації натрієвих каналів;  $d$  – функція активації та  $f$  – функція інактивації кальцієвих каналів.

Провідності та струми для  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  визначаються п'ятьма змінними  $n$ ,  $m$ ,  $h$ ,  $d$  та  $f$ , які є рішеннями диференційних рівнянь:

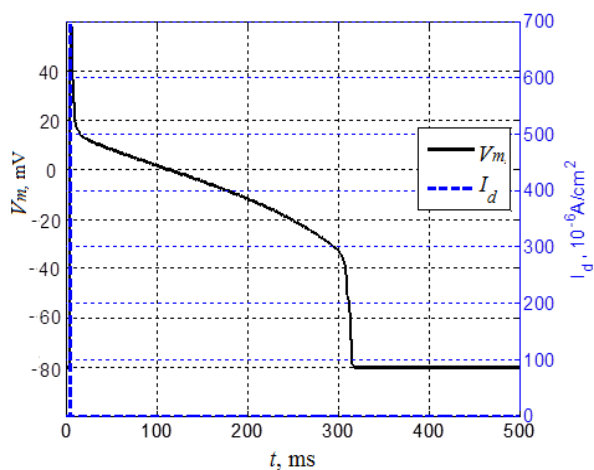
$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n}, \quad \frac{dm}{dt} = \frac{m_\infty - m}{\tau_m}, \quad \frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty - h}{\tau_h}, \quad \frac{dd}{dt} = \frac{d_\infty - d}{\tau_d}, \quad \frac{df}{dt} = \frac{f_\infty - f}{\tau_f}, \quad (2)$$

де  $n_\infty$ ,  $m_\infty$ , and  $d_\infty$  - усталені значення активаційної функції для калієвих, натрієвих та кальцієвих каналів відповідно;  $h_\infty$  and  $f_\infty$  - усталені значення функції інактивації каналів натрію та кальцію;  $\tau_n$ ,  $\tau_m$ , and  $\tau_d$  - періоди релаксації активації калієвих, натрієвих та кальцієвих каналів;  $\tau_h$  та  $\tau_f$  є періодами релаксації інактивації для натрієвих та кальцієвих каналів.

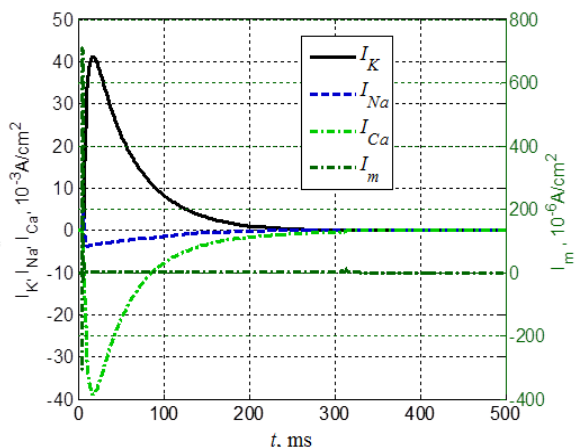
Рівняння (1) і (2) визначають задачу Коші для системи звичайних диференціальних рівнянь з початковими умовами:

$$v_m(0) = 0; \quad n(0) = n_0; \quad m(0) = m_0; \quad d(0) = d_0; \quad h(0) = h_0; \quad f(0) = f_0.$$

На основі наведених рівнянь можна виконати моделювання потенціалу дії та іонних струмів для шлуночкових та передсердних кардіоміоцитів, що допомагає вивчати електричні властивості кардіоміоцитів.



а)



б)

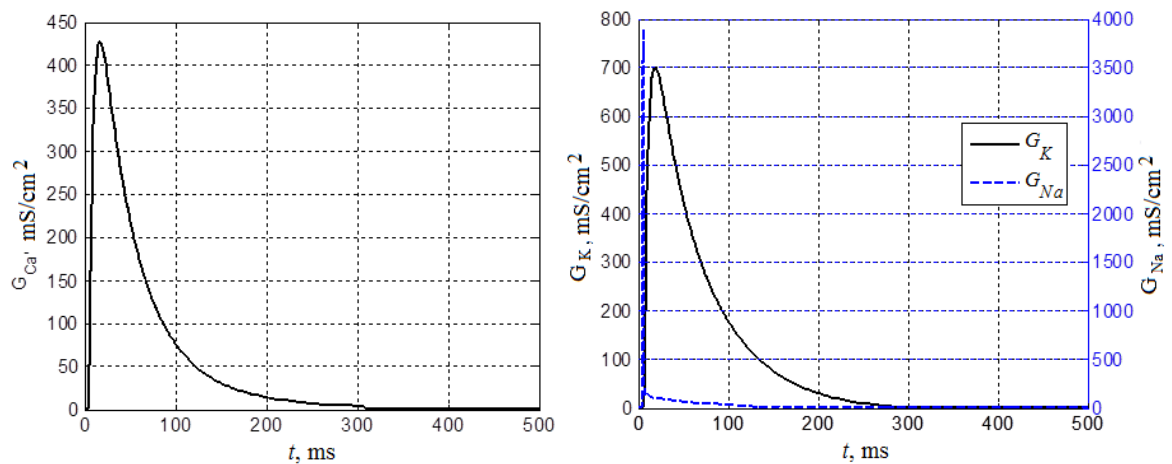


Рис.2. Результати числових експериментів: потенціал дії (а), струми  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  іонів (б), провідність  $Ca^{2+}$  каналу (в), провідність  $K^+$ ,  $Na^+$  каналів (г) шлуночкових кардіоміоцитів

На рис. 2 продемонстровано результати числових експериментів, які виконано на основі обчислювальної моделі та розраховано потенціал дії, струми та провідності для іонів калію, натрію, кальцію для шлуночкових кардіоміоцитів.

#### 4. Дослідження електричних властивостей кардіоміоцитів: рефрактерного періоду та електричної реституції

Для вивчення електричних властивостей кардіоміоцитів, таких як рефрактерний період та реституція, необхідно виконувати числові експерименти згідно протоколів стимуляції. З метою виконання вимог стандартних протоколів, частота стимуляції  $Fst$  (довжина циклу стимуляції ( $CL$ )) повинна змінюватися від 1 Гц (1000 мс) до 6 Гц (167 мс), а тривалість потенціалів дії ( $APD$ ) обчислюватися як інтервал від початку потенціалу дії до моменту часу 90% тривалості потенціалу дії ( $APD90$ ).

Відомо, що **рефрактерність** кардіоміоцитів визначається рефрактерним періодом, який є періодом часу, коли наступний потенціал дії не може генеруватися, оскільки клітині потрібно відновити електрофізіологічний стан. Ця особливість потенціалу дії має місце завдяки процесам інактивації  $Na^+$  та  $Ca^{2+}$



каналів. На рис.3 та 4,а наведено потенціали дії, які при різних частотах стимуляції (2,5 Гц, 3 Гц, 3,25 Гц, 3,27 Гц). демонструють зміну тривалості зі збільшенням  $Fst$  (зменшенням  $CL$ ), а на рис.4, б ( $CL = 306$  мс,  $Fst = 3,27$  Гц) показано випадок втрати потенціалу дії внаслідок рефрактерності.

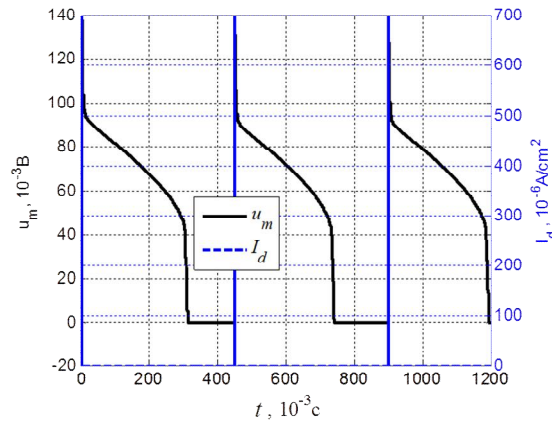


Рис.3. Генерація потенціалу дії (AP) в процесі стимуляції:  
 $Fst = 2,5$  Гц ( $CL = 400$  мс)

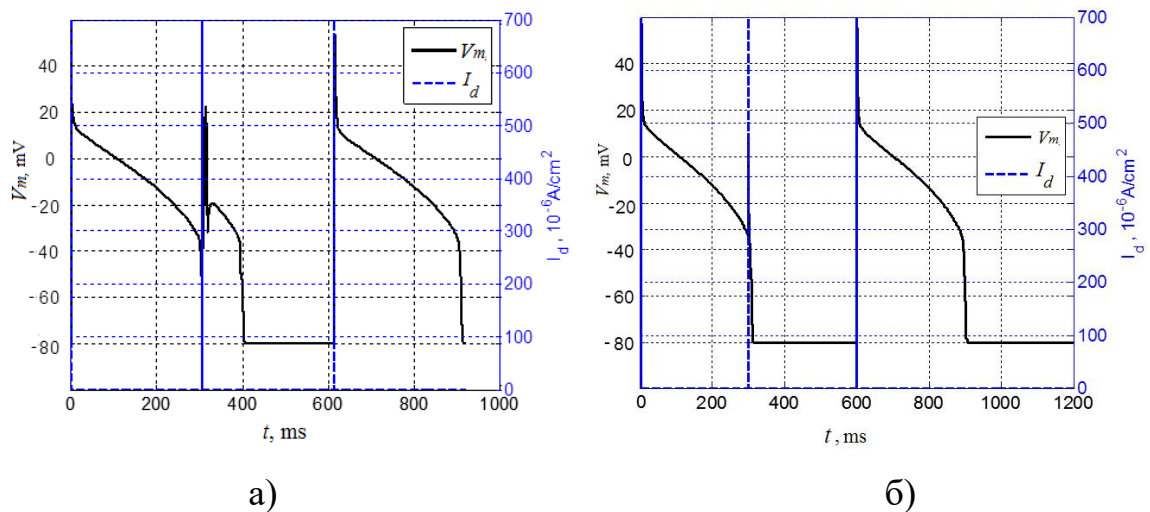


Рис.4. Зміна тривалості потенціалу дії (APD) під час процесу стимуляції:  
 $Fst = 3,25$  Гц ( $CL = 308$  мс), б)  $Fst = 3,27$  Гц ( $CL = 306$  мс)

Згідно теорії, **електрична реституція** є властивістю серцевих клітин змінювати тривалість потенціалу дії відповідно до частоти серцевих скорочень. Найчастіше досліджуються взаємозв'язки між тривалістю потенціалу дії кардіоміоцитів та значеннями  $Fst$  ( $CL$ ). Вважається, що реституція відбувається тому, що струм кальцію не відновлюється повністю при короткому  $CL$ , що призводить до короткої тривалості потенціала дії..

Криві реституції тривалості потенціалів дії  $APD_{90}$  для передсердних та шлуночкових кардіоміоцитів показані як функції частоти стимуляції  $Fst$  (рис.5, а) і як функції тривалості циклу  $CL$  (рис.5, б).

Розраховані криві реституції дозволяють визначити максимальні нахили, які визначають аритмогенні властивості клітин серця (при яких кардіоміоцити можуть змінювати швидкість биття). Крім того, є підтвердження того, що препарати, що зменшують нахил реституції, відіграють захисну роль проти аритмії.

Результати обчислень корисні для інтерпретації експериментальних результатів з *hiPSC-CM* на платформі *Lab-on-Chip* та для розробки нового дизайну експериментів щодо персоналізованих досліджень серцевих захворювань

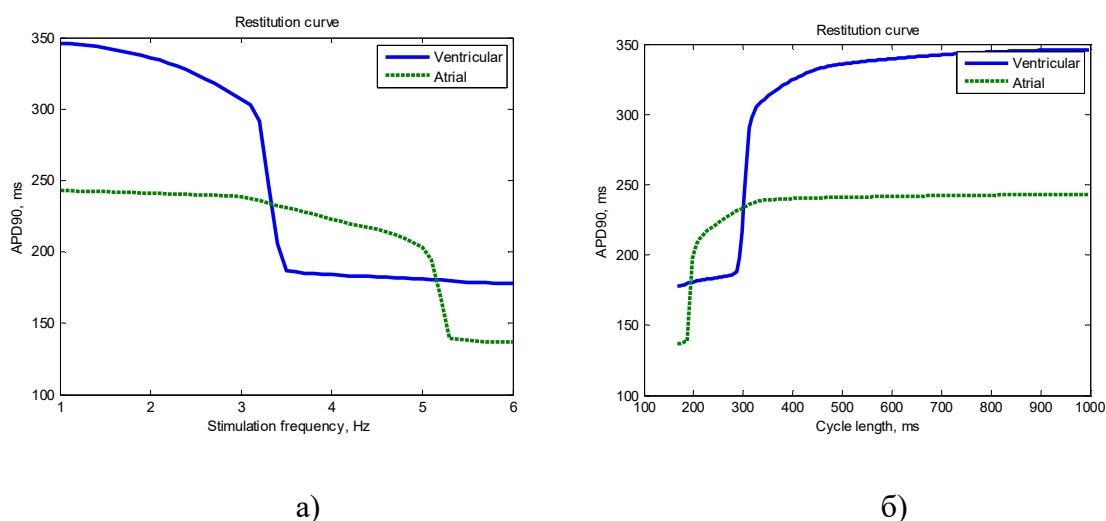


Рис. 5. Криві реституції тривалості потенціалів дії  $APD_{90}$  для передсердних та шлуночкових кардіоміоцитів:  $APD_{90}$  від  $Fst$  (а),  $APD_{90}$  від  $CL$  (б).

Результати обчислень корисні для інтерпретації експериментальних результатів з *hiPSC-CM* на платформі *Lab-on-Chip* та для розробки нового дизайну експериментів щодо персоналізованих досліджень серцевих захворювань

Відомо, що зміни тривалості потенціалу дії ( $APD$ ) відіграють важливу роль в аритмогенезі. Було проведено чимало досліджень з вивчення електричної реституції, яка є внутрішньою серцевою властивістю зміни  $APD$  відповідно до частоти серцевих скорочень. Велика кількість досліджень показала залежність

між коливаннями міокарда та нахилом кривої реституції ("гіпотеза про реституцію"). Вважається, що при максимальному нахилі кривої реституції може спостерігатися нестабільність функціонування кардіоміоцитів.

З метою дослідження зміни ритмів серцебиття можна змоделювати електричні процеси в серцевих клітинах за допомогою нового протоколу стимуляції, що складається з двох етапів. Перший етап призначений для отримання даних про електричну реституцію серцевих клітин. Другий етап призначений для дослідження режимів, при яких можуть виникати різні ритми серцебиття кардіоміоцитів.

Перший етап моделювання протоколу (*DYRT*) виконується за допомогою електричної стимуляції, як розпочинається на частоті 1 Гц і збільшується з кроком 1 Гц до 5 Гц. Тривалість потенціалу дії (*APD*) для шлуночкових кардіоміоцитів скорочується при збільшенні *Fst* та зменшенні *CL* (рис. 4). Середнє значення *APD90* на кожній частоті стимуляції (довжина циклу) отримано шляхом усереднення 20 послідовних *AP*. Криві електричної реституції середньої *APD90* для шлуночкових кардіоміоцитів показані як функції *Fst* (рис. 5, а) і як функції *CL*, обернені *Fst* (рис. 5, б). Ці криві реституції мають кілька фаз з різною крутизною, при цьому максимальний нахил кривих виникає через рефрактерність кардіоміоцитів.

На початку другого етапу протоколу електричну стимуляцію проводиться на частоті 1 Гц, щоб створити однакові початкові умови для динаміки електричної активності кардіоміоцитів. Подальше стимулювання здійснюється при частоті стимуляції (*Fst* = 3,39 Гц) або довжині циклу (*CL* = 295 мс), які відповідають зонам кривої реституції з крутим нахилом. Для імітації зміни ритмів серцебиття в кардіоміоцитах використовується різний час затримки стимулюючих імпульсів (*DTSP*), на основі якого встановлюються різні початкові умови.

Набір з 10 відповідей кардіоміоцитів від 10 подразників при постійному *CL* = 295 мс (ритм серцебиття 1:1) з початковим часом затримки стимулюючих імпульсів (*DTSP* = 280 мс) показано на рис. 6 для потенціалів дії (рис. 6 . 3, а); для

струмів іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  (рис. 6, б); для провідності каналів  $Ca^{2+}$  (рис. 6, в); і для провідності каналів  $K^+$ ,  $Na^+$  (рис. 6, г).

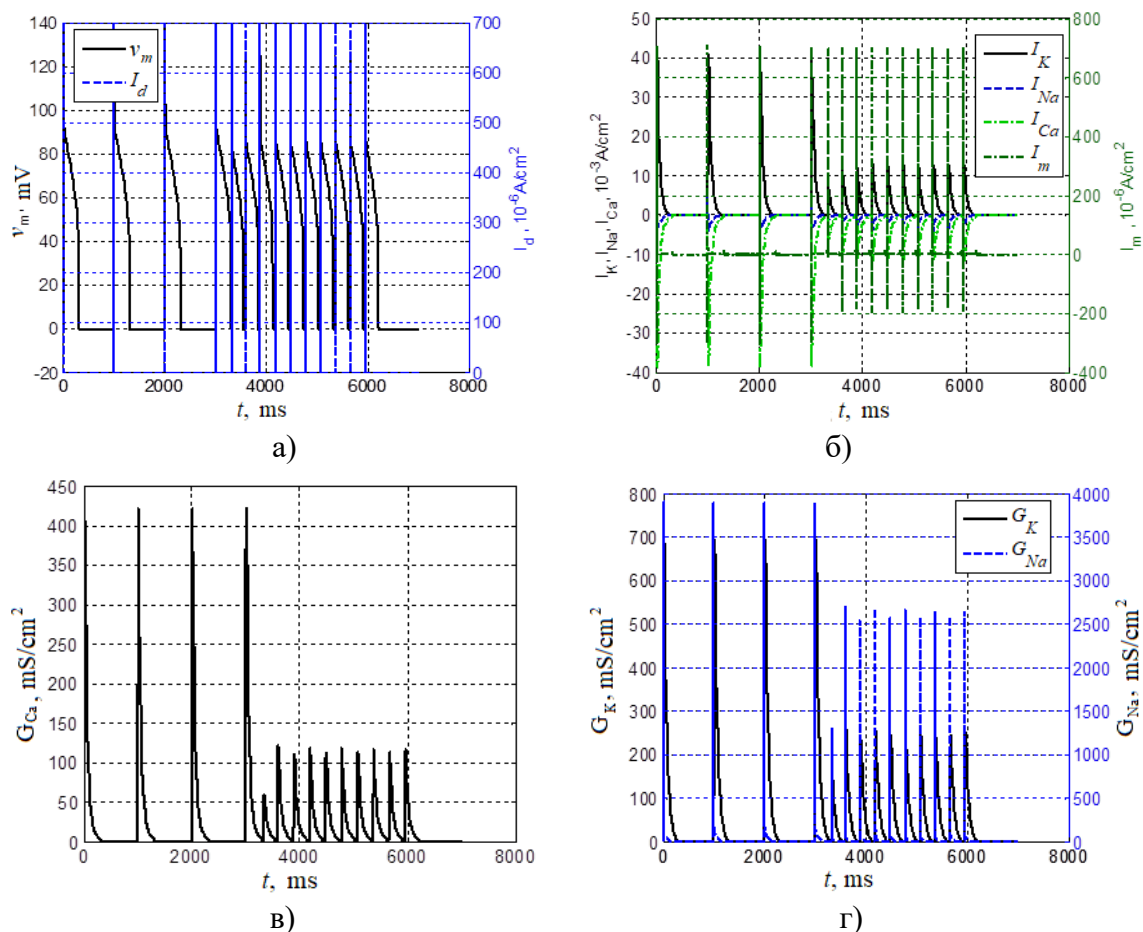


Рис.6. Набір з 4 відповідей при  $CL_1 = 1000$  ms та 10 відповідей з **ритмом серцебиття 1:1** при  $CL_2 = 295$  ms та початковому часі затримки стимулюючих імпульсів ( $DSP = 280$  ms): потенціали дії (а); струми  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  іонів (б); провідність  $Ca^{2+}$  каналів (в); провідності для  $K^+$ ,  $Na^+$  каналів (г).

Якщо початковий час затримки стимулюючих імпульсів збільшується ( $DTSP = 310$  ms) ритм серцебиття збільшується і стає 2:1. Рис. 7 демонструє набір з 5 відповідей кардіоміоцитів від 10 подразників при постійному  $CL = 295$  ms (ритм серцебиття 2:1) : для потенціалів дії (рис.7 . 3, а); для струмів іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  (рис. 7, б); для провідності каналів  $Ca^{2+}$  (рис. 7, в); і для провідностей каналів  $K^+$ ,  $Na^+$  (рис. 7, г).

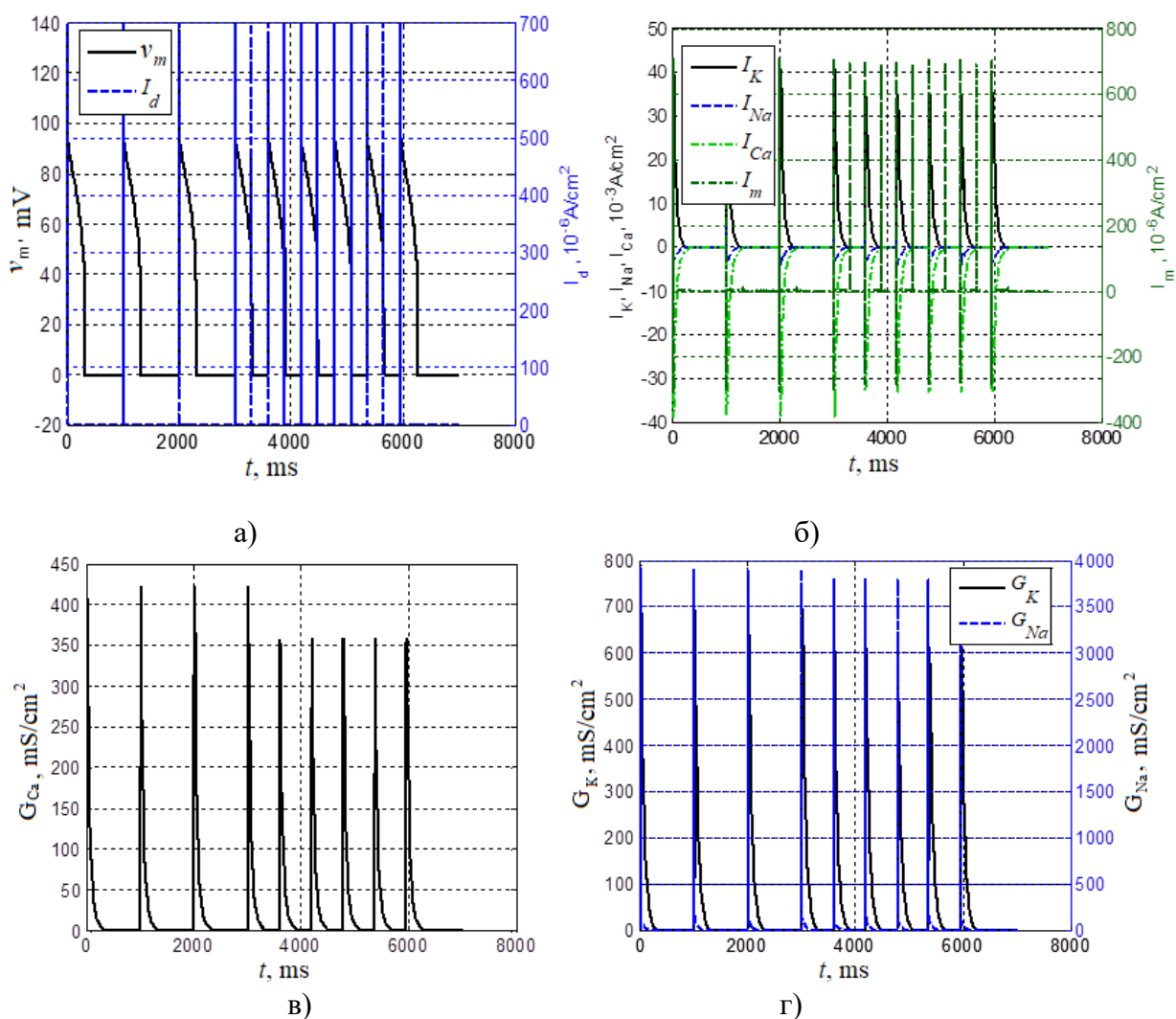


Рис.7. Набір з 4 відповідей при  $CL_1 = 1000 \text{ ms}$  та 5 відповідей з **ритмом серцебиття 2:1** при  $CL_2 = 295 \text{ ms}$  та початковому часі затримки стимулюючих імпульсів ( $DSP = 310 \text{ ms}$ ): потенціали дії (а); струми  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  іонів (б); провідність  $Ca^{2+}$  каналів (в); провідності для  $K^+$ ,  $Na^+$  каналів (г).

Отже, ідентифікація максимальних нахилів в кривих реституції дає можливість визначити аритмогенні властивості клітин серця та пояснити зміну частоти серцебиття кардіоміоцитів.

Згідно до гіпотези про реституцію крутизна електричної реституції може бути ключовим маркером при прогнозуванні виникнення альтернацій потенціалів дії кардіоміоцитів та небезпечних аритмій, таких як фібриляція шлуночків.

### **Робоче завдання.**

1. На основі рівнянь (1) та (2) виконати моделювання потенціалу дії, іонних струмів та провідностей  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  каналів для шлуночкових та передсердних кардіоміоцитів.
2. Виконати дослідження електричних властивостей шлуночкових та передсердних кардіоміоцитів: періоду рефрактерності та електричної реституції. На побудованих кривих реституції визначити зони з максимальними нахилами.
3. Виконати дослідження зміни ритмів серцебиття на основі моделювання електричних процесів в серцевих клітинах за допомогою ідентифікації зон з максимальними нахилами в кривих реституції та використання різного часу затримки стимулюючих імпульсів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. У. Хартманн. Очарование нанотехнологии. — М: Бином. Лаборатория знаний. — 2008. — 173 с.
2. Каменек Л.К., Брынских Г.Т. Введение в нанотехнологии. Химия. — Изд-во: УлГУ, — 2008.
3. Сыч В.Ф., Дрожжина В.П. Введение в нанотехнологии. Биология. — Изд-во: УлГУ, — 2008.
4. Светухин В.В., Разумовская И.В. Введение в нанотехнологии. Физика.— Изд-во: УлГУ, — 2008.
5. Кобаяси Н. Введение в нанотехнологию. — Изд-во: Бином. Лаборатория знаний. — 2008. — 134 с.
6. Суздалев И. П. Нанотехнология. Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. — Изд-во: КомКнига. — 2006. — 592 с.
7. Рыбалкина М. Нанотехнологии для всех. — 2005. — 444 с.
8. Plonsey R. Bioelectricity. A Quantitative Approach / R .Plonsey, R. Barr; Third Edition. — Springer, 2007. — 528 p. DOI: 10.1007/978-0-387-48865-3.
9. Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры: Пер. с англ./ Пер. Слинкин М.А., Зимина Т.М., Лучинин В.В. — М.: Техносфера, 2005.
10. Фрайден Дж. Современные датчики: Справочник: Пер. с англ. / Пер. Заболотная Ю.А.; Ред. пер. Свинцов Е.Л. — М.: Техносфера, 2006.
11. Плонси Р., Бар Р. Биоэлектричество. Количественный подход. — М.: Мир, 1992. — 336 с.
12. Антонов В.Ф. Биофизика: Учеб. для ВУЗов. М.: Наука. — 2003. — 312 с.
13. М. Шуленбург. Нанотехнологии. Новинки завтрашнего дня. — 2006.— 60 с.
14. Власов А. И. Бионаноинженерия: учеб. пособие / А. И. Власов, А. А. Денисов, К. А. Елсуков. — М. : Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2011. —224 с.

15. Bio-MEMS: Technologies and Applications. Edited by W. Wang, S.A. Soper. — CRC Press, 2007.
16. Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications. Edited by M.R. Mozafari. — Springer, 2007.
17. S.S. Saliterman. Fundamentals of BioMEMS and Medical Microdevices.— SPIE Publications, 2006.
18. J. Enderle, S.M. Blanchard, J. Bronzino. Introduction to Biomedical Engineering, Second Edition. — Elsevier Academic Press, 2005.
19. Biomedical Nanotechnology. Edited by N.H. Malsch. — CRC Press, 2005.
20. D.S. Goodsell. Bionanotechnology: Lessons from Nature. — Wiley-Liss, Inc., 2004.
21. BioMEMS and Biomedical Nanotechnology. Therapeutic Micro/Nanotechnology. Edited by M. Ferrari. — Volume 3. — Springer, 2006.
22. Ю.С. Тараховский. Интеллектуальные липидные наноконтейнеры в адресной доставке лекарственных веществ. — М.: Издательство ЛКИ, 2011. — 280 с.
23. Г. Паун, Г. Розенберг, А. Саломаа. ДНК-компьютер. Новая парадигма вычислений: Пер. с англ./ Д.С. Ананичев, И.С. Киселева, О.Б. Финогенова; Ред. пер. М.В. Волкова. — М.: Мир, 2003. — 529 с.
24. A. Marsano, C. Conficconi, M. Lemme, P. Occhetta, E. Gaudiello, E. Votta, G. Cerino, A. Redaelli, M. Rasponi. Beating heart on a chip: a novel microfluidic platform to generate functional 3D cardiac microtissues. *Lab Chip*, 2016, 16, 599–610. doi: 10.1039/c5lc01356a.
25. Richardson E.S., Xiao YF. (2010) Electrophysiology of Single Cardiomyocytes: Patch Clamp and Other Recording Methods. In: Sigg D., Iaizzo P., Xiao YF., He B. (eds) *Cardiac Electrophysiology Methods and Models*. 2010, Springer, Boston, MA. doi: 10.1007/978-1-4419-6658-2\_16.



26. Simulation of action potential in cardiomyocytes / Ivanko K., Ivanushkina N., Prokopenko Y. // Proceedings of 2017 IEEE 37th International Scientific Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO).– 2017.– pp. 358-362. doi: 10.1109/ELNANO.2017.7939777.
27. Junyi Ma, Liang Guo, Steve J. Fiene, Blake D. Anson, James A. Thomson, Timothy J. Kamp, Kyle L. Kolaja, Bradley J. Swanson and Craig T. January. High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011 Nov, 301(5), H2006-H2017. doi: 10.1152/ajpheart.00694.2011.
28. Ivanushkina N. G., Ivan'ko E. O., Prokopenko Yu. V., Redaelli A., Tymofieiev V. I., Visone R. A Computational Model of Electrophysiological Properties of Cardiomyocytes, *Visnyk NTUU KPI. Serii Radiotekhnika. Radioaparotobuduvannia*”, 2018, Iss. 72, pp. 69–77.
29. Computer modelling of cardiac cells electrical activity/ N.Ivanushkina, K.Ivanko, Y.Prokopenko, V.Tymofieiev, R.Visone R, A.Redaeli.// Proceedings of 2018 IEEE 38th International Scientific Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO). – 2018. – pp. 369-374.
30. N. Ivanushkina, K. Ivanko, Y. Prokopenko, A. Redaelli, V. Timofeyev, R. Visone. Simulation of Electrical Restitution in Cardiomyocytes, *International Conference on Computer Science, Engineering and Education Applications (ICCSEEA2018)*. Journal Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2019.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
<i>Лабораторна робота № 1. Моделювання біонаносенсорів.....</i>	<i>4</i>
<i>Лабораторна робота № 2. Дослідження ДНК-секвенатора.....</i>	<i>13</i>
<i>Лабораторна робота № 3. Моделювання біосенсорної наносистеми.....</i>	<i>21</i>
<i>Лабораторна робота № 4. Моделювання електрофізіологічних властивостей серцевих клітин.....</i>	<i>29</i>
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	47